Über eine Methode

der

Bestimmung und Trennung

von

Chlorophyllderivaten.

*

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

(SEKTION II)

DER

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

VORGELEGT VON

WALTER MIEG

AUS SPANDAU (BRANDENBURG).

ZÜRICH 1906.

Aktienbuchdruckerei Zürich, Stampfenbachstr. 13.

Über eine Methode

der

Bestimmung und Trennung

von

Chlorophyllderivaten.

*

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

(SEKTION II)

DER

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

VORGELEGT VON

WALTER MIEG

AUS SPANDAU (BRANDENBURG).

ZÜRICH 1906.

Aktienbuchdruckerei Zürich, Stampfenbachstr. 13.

Meinen lieben Eltern!

Vorliegende Arbeit wurde im chemischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften zu München und zwar im Privatlaboratorium von Herrn Prof. Dr. *R. Willstätter* ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. *R. Willstätter,* auf dessen Anregung und unter dessen liebenswürdiger Leitung diese Arbeit entstand, sowie Herrn Geheimrat Prof. Dr. *A. von Baeyer*, für das meinen Studien entgegengebrachte Interesse meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552318_0090

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Einleitung 9

Theoretischer Teil.

1. Eine Methode der Fraktionierung 27
2. Phytochlorine und Phytorhodine 34

Experimenteller Teil.

I. Phytochlorine

1. Ausgangsmaterial 43
2. Darstellung der Phytochlorine a und b 45
3. Phytochlorin a 49
4. Phytochlorin b 53
5. Esterifizierung des Phytochlorins b 56
6. Umwandlung von Phytochlorin a in b 57
7. Bildung der Phytochlorine c und d aus a und b mittels konzentrierter Salzsäure 58
8. Phytochlorin c 60
9. Phytochlorin d 61

Anhang: Einwirkung konzentrierter Salzsäure auf den chlorophyllanartigen Extrakt 63

II. Phytorhodine

1. Ausgangsmaterial 65
2. Alkachlorophyllkaliumverbindung 66
3. Alkachlorophyllcalciumverbindung 67
4. Gewinnung der Phytorhodine aus der Kaliumverbindung 68
5. Gewinnung der Phytorhodine aus der Calciumverbindung 70
6. Phytorhodin a 71
7. Äthylester des Phytorhodins a 72
8. Phytorhodin b 73
9. Äthylester des Phytorhodins b 74
10. Phytorhodin c 75
11. Phytorhodine d und e 76
12. Phytorhodin f 77

III. Komplexe Verbindungen mit Metallsalzen 80

Einleitung.

In den letzten Jahren sind bei der Erforschung des Chlorophylls und des Blutfarbstoffs eine Reihe von Entdeckungen gemacht worden, die den engen Zusammenhang der beiden Farbstoffe mit aller Sicherheit erkennen lassen. Zu diesem Ergebnis von weittragendster Bedeutung für die Biologie sowohl wie für die Chemie des Blattgrüns und Hämoglobins führten zuerst die wichtigen Untersuchungen von *E. Schunck* und *L. Marchlewski*.[1]) Die genannten Autoren stellten nämlich aus verschiedenen Derivaten des Chlorophylls durch Einwirkung von Alkalien bei höherer Temperatur eine wohlcharakterisierte Verbindung von roter Farbe dar, das Phylloporphyrin, und wiesen dessen nahe Verwandschaft mit dem Hämatoporphyrin, einem eisenfreien Abkömmling des Blutfarbstoffs, in überzeugender Weise nach.

Die nahen Beziehungen der beiden Substanzen zeigten sich zunächst in der ausserordentlichen Aehnlichkeit der Absorptionsspektren ihrer Lösungen, sowie der Lösungen ihrer Salze. Es besteht nur insofern ein Unterschied zwischen den entsprechenden Spektren, als bei dem Derivat des Hämoglobins alle Bänder im Vergleich zu denen des Phylloporphyrins ein wenig nach Rot hin verschoben sind. Noch näher steht dem Phylloporphyrin in spektroskopischer Hinsicht das Mesoporphyrin, eine Verbindung, die neuerdings von *M. Nencki* und *J. Zaleski*[2]) durch Reduktion von Hämatoporphyrin mit Jodwasserstoff und

1) Proc. Roy. Soc. 59,233 (1895) und Liebigs Ann. 290,306 (1896).
2) Anz. Akad. Wissensch. Krakau 1901,217: und Ber. 34,997 (1901).

Jodphosphonium erhalten wurde. Das Mesoporphyrin steht überhaupt nach seinen Eigenschaften in der Mitte zwischen den zwei zuerst angeführten Abbauprodukten, ja bei der Einwirkung von Brom auf Meso- und Phylloporphyrin[1]) wurden sogar Substanzen erhalten, die in spektroskopischer Hinsicht keinen Unterschied mehr zeigten.

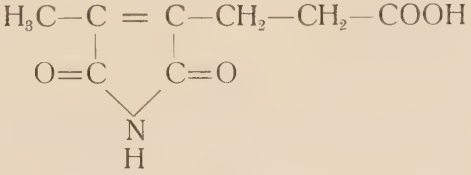
Auch in der analytisch ermittelten Zusammensetzung tritt die Verwandtschaft der besprochenen Verbindungen deutlich hervor, obwohl die wahren empirischen Formeln der Einzelnen noch nicht ganz sicher gestellt sind. Nach *Schunck* und *Marchlewski* unterscheidet sich Phylloporphyrin nur durch den Mindergehalt zweier Hydroxylgruppen von dem Hämatophorphyrin von *Nencki* und *Sieber*[2]), dem diese Autoren die Formel C_{16} H_{18} N_2 O_3 gaben. Bedeutend höhere Molekulargewichte fanden später *Nencki* und *Zaleski* bei Hämato- und Mesoporphyrin, Ergebnisse, die ev. auch eine Aenderung der Formel des Chlorophyllderivates bedingen würden.

Schliesslich fand man noch auf rein chemischem Wege, durch Darstellung eines identischen Reduktions- und Oxydationsproduktes aus verschiedenen Abkömmlingen des Blatt- und Blutfarbstoffs Beweise für den engen Zusammenhang dieser letzteren. Schon vor längerer Zeit glaubte man zwar aus Derivaten beider Farbstoffe durch pyrogene Reaktionen Pyrrol erhalten zu haben. Eher beweiskräftig war die Darstellung eines Homologen, des Hämopyrrols, eines sauerstoffreien, leicht zersetzlichen Oeles von der Zusammensetzung C_8 H_{13} N, das die Farbenreaktion der Pyrrole (Rötung eines mit Salzsäure getränkten Fichtenspahns) zeigt. Hämopyrrol konnte durch charakteristische Reaktionen gekennzeichnet werden; beispielsweise wird es sehr leicht durch den Sauerstoff der Luft zu dem hepatogenen Urobilin oxydiert. Zuerst wurde es von *Nencki* und *Zaleski* aus Hämin durch energische Reduktion mit Jodwasserstoffsäure und Jodphosphonium neben Mesoporphyrin erhalten, und bald darauf von *Nencki* und *Marchlewski*[3]) auf

1) L. Marchlewski, Ber. 35,4342 (1902).
2) Wien. Monatsh. 9,115 (1888); vergl. auch 11,568 (1890).
3) Ber. 34,1687 (1901).

dieselbe Weise aus einem Kupferacetatdoppelsalz des Phyllocyanins, eines hochmolekularen Chlorophyllderivates. Der Abbau erfolgte hierbei allerdings mit so gewaltsamen Mitteln, dass es unsicher ist, ob das Molekül des Hämopyrrols in den der Reduktion unterworfenen Farbstoffen schon vorgebildet war, und ob es andererseits nicht nur ein willkürlicher kleiner Teil des zweifellos sehr hohen Gesammtmoleküls ist.

Aehnliche Bedenken gelten für den oxydativen Abbau, der jedoch deshalb von besonderem Interesse ist, weil er über die Konstitution der entstehenden Produkte Aufschluss gibt und dadurch auch einen Schluss über die Zusammensetzung des Hämopyrrols zulässt. Aus Derivaten des Hämoglobins, beispielsweise dem Hämatin, erhielt *W. Küster*[1]) durch Einwirkung von Chromsäure eine stickstoffhaltige Säure, deren Konstitution



als Imid der sogenannten dreibasischen Hämatinsäure durch Abbau in synthetisch zugängliche Verbindungen mit ziemlicher Sicherheit ermittelt werden konnte. Andererseits stellte *Marchlewski* eine dieser Verbindungen, das Hämatinsäureanhydrid, durch Oxydation von Phylloporphyrin dar. Für das Hämopyrrol wurde hierdurch die Formel des 3—Methyl—4—n—propylpyrrols wahrscheinlich gemacht.

Diese bedeutungsvollen Resultate lenken von neuem das Interesse auf die Chemie des Blutfarbstoffs und besonders auch des Blattgrüns, dessen schwerzugängliche Abbauprodukte bisher nur in sehr geringen Mengen rein erhalten wurden und dementsprechend noch sehr viele Unklarheiten der Charakterisierung aufweisen. Im Gegensatz zu der kleinen Zahl der bis jetzt bekannten, relativ leicht darzustellenden Abkömmlinge des Hämoglobins findet man in der Chlorophylliteratur eine ganze

1) Liebigs Ann. 315,174 (1901) und Ber. 35,2948 (1902).

Reihe von gefärbten Derivaten angeführt, die zwischen dem eigentlichen Blattgrün und dem letzten Abbauprodukt Phylloporphyrin stehen.

Die Untersuchung dieser Substanzen reicht bis ins Ende des achtzehnten Jahrhundert zurück, jedoch erst die neuere Zeit brachte einen tieferen Einblick in dieses schwierige Gebiet.

Ausserordentlich viel Zeit und Mühe wurde vor allem aufgewandt, den unveränderten grünen Pflanzenfarbstoff selbst in reiner Form zu isolieren. Aber die hieranf hinzielenden Versuche der meisten älteren Forscher -- beispielsweise von *Berzelius*[1]) — sowie einiger späteren mussten schon deshalb scheitern, weil man die grosse Empfindlichkeit des Chlorophylls gegen Säuren wie Alkalien weder erkannte noch berücksichtigte. Weit zweckmässiger verfuhren diejenigen Autoren, welche jede Benützung von chemischen Reagentien im eigentlichen Sinne des Wortes vermieden. Sie suchten die Abtrennung der gefärbten Begleiter des Blattgrüns in der Weise zu erreichen, dass sie die alkoholischen Rohextrakte[2]) mit Flüssigkeiten digerierten, die nicht in jedem Verhältnis mit Alkohol mischbar waren und ausserdem die verschiedenen Farbstoffe in ungleichem Masse lössten.

Derartige grundlegende Versuche einer rationellen Reindarstellung des Chlorophylls gingen in erster Linie von *G. Kraus*[3]) und von *Sorby*[4]) aus, welche Benzin, bezw. Schwefelkohlenstoff zur Entmischung der Extrakte anwandten. Es gelang ihnen, mit diesen Solventien verhältnismässig reine Lösungen des Blattgrüns aus den alkoholischen Mutterlaugen abzutrennen.

Wohl am nächsten kamen der Lösung des Problems *L. Marchlewski* und *C. A. Schunck*[5]), welche sich bei ihren Arbeiten mit besonders gutem Erfolge der Spektralanalyse bedienten, wie überhaupt die Beobachtung der Absorptionsspektren

1) Ann Pharm. 26,296 (1838).

2) Fast stets wurde zum Extrahieren Alkohol verwendet, durch den der grüne Farbstoff dem Pflanzenmaterial namentlich beim Erwärmen leicht entzogen werden kann.

3) Zur Kenntnis der Chlorophyllfarbstoffe (1872).

4) Proc Roy. Soc. 21,442 (1873).

5) I. pr. Ch. 62,247 (1900).

von den meisten neueren Autoren als wesentlichstes Hilfsmittel der Untersuchung benutzt wurde. Insbesondere konnte *C. A. Schunck*[1]) auf photographischem Wege nach *A. Tschirch's*[2]) Vorgang die Absorptionen in der stärker brechbaren Spektrumhälfte zur Charakteristik der Verbindungen heranziehen.

So gewann man wichtige Anhaltspunkte für eine zweckmässige Reinigung des Chlorophylls. Es ergab sich nämlich, dass neben dem eigentlichen Blattgrün noch ein zweiter grüner Farbstoff, das Allochlorophyll, in den alkoholischen Extrakten auftritt. Während jenes sechs Absorptionsbänder zeigt, nämlich drei im weniger brechbaren Teil des Spektrums (vor der Linie F), und drei im stärker gebrochenen, ist dieses durch nur vier Bänder charakterisiert, welche alle vor der F-Linie liegen.

Bezüglich der Absorption im Violett war man lange im Unklaren und geneigt, die hier bei einem Rohextrakt sichtbaren Bänder den gelben Begleitern des Chlorophylls zuzuschreiben. *C. A. Schunck* wies jedoch die Unrichtigkeit dieser Annahme nach. Seine Untersuchungen geben einige vorläufige Anhaltspunkte hinsichtlich dieser gelben Farbstoffe, über deren Anzahl und chemische Natur aber nur recht unsichere Angaben vorliegen. Nach ihm enthält der alkoholische Chlorophyllrohextrakt mindestens zwei solcher Verbindungen. Eine derselben, das Xanthophyll, kann beispielsweise sichtbar gemacht werden, indem man der alkoholischen Lösung durch Schütteln mit Tierkohle alle grün gefärbte Substanz entzieht. Xanthophyll ist wie die anderen neben dem Blattgrün auftretenden gelben Stoffe stickstofffrei. Es besitzt vier Absorptionsbänder in der stärker brechbaren Spektrumhälfte. Von ihm unterscheidet sich in spektroskopischer Hinsicht das sogenannte Chrysophyll, ein Farbstoff, der oft aus konzentrierter alkoholischer Extraktlösung in rotgelben Krystallen herauskommt und nur drei, etwas anders gelagerte Bänder aufweist.

Sehr häufig tritt neben diesen beiden Produkten noch eine dritte gelb gefärbte Verbindung auf, die keine Absorptionsbänder, sondern nur totale Absorption der violetten und ultra-

1) Proc. Roy. Soc. 63,389 (1898) und 65,177 (1899).
2) Ber. d. deutsch. bot. Ges. 14,76 (1896).

violetten Strahlen zeigt und in gelben Herbstblättern immer zu finden ist. Ob einer der erwähnten Farbstoffe mit dem Carotin der Mohrrübe identisch ist, konnte noch nicht mit Sicherheit erwiesen werden.

Diese Beobachtungen verwerteten *Marchlewski* und *C. A. Schunck*, als sie in Anlehnung an die ältere Sorby'sche Methode eine Reindarstellung des Chlorophylls versuchten. Sie verfuhren dabei im Prinzip folgendermassen. Alkoholischen Auszügen frischer Blätter wurde durch Digerieren mit Schwefelkohlenstoff der grösste Teil der grünen nebst beträchtlichen Mengen gelber Farbstoffe entzogen. Hierauf wurde die abgetrennte Schwefelkohlenstofflösung durch Ausschütteln mit frischem Alkohol von den in letzterem leichter löslichen Begleitern des Chlorophylls, nämlich Allochlorophyll und den gelben Farbstoffen, befreit. Die Reinigung galt als beendigt, wenn auf spektroskopischem Wege die Anwesenheit der gefärbten Beimengungen im Schwefelkohlenstoff nicht mehr nachgewiesen werden konnte.

Nach dem Eindampfen der Lösung hinterblieb das „Reinchlorophyll" als eine Masse von wachsartiger Beschaffenheit; krystallisiert konnte es nicht erhalten werden. Es löst sich in den meisten indifferenten Solventien mit bläulichgrüner Farbe und roter Fluorescenz und besitzt das charakteristische Spektrum mit sechs Bändern; in Wasser ist es unlöslich. Wenn das Produkt auch von den begleitenden Farbstoffen frei erscheint, ist doch noch unbekannt, inwieweit es von farblosen Substanzen verunreinigt ist, und ob somit sein Aschengehalt — es konnte hauptsächlich Phosphorsäure nachgewiesen werden, dagegen ist es nach *Molischs*[1]) Untersuchungen eisenfrei — konstitutiv ist. Demgemäss ist die Frage, ob Chlorophyll zu den Lecithinen[2]) zu zählen ist, vorläufig unentschieden geblieben, zumal auch diejenigen Abbauprodukte, welche noch unorganische Substanz enthalten, hierüber keine völlige Aufklärung brachten.

[1]) Die Pflanzen in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.

[2]) Bode hat in einem Chlorophyllderivat von allerdings zweifelhafter Einheitlichkeit neben Phosphorsäure auch Glycerin und Cholin nachgewiesen [Botan. Centralbl. 79, 227] (1899). Im Uebrigen ist über die farblosen Spaltungsprodukte des Chlorophylls noch sehr wenig bekannt.

Derartige aschenhaltige Abkömmlinge stehen dem Blattgrün natürlich noch recht nahe und besitzen infolgedessen ein sehr hohes Molekulargewicht. Daher ist ihre Untersuchung und Isolierung ebenfalls ausserordentlich schwierig und hat bis jetzt noch nicht zu einwandfrei reinen Verbindungen geführt.

Längere Zeit hielt man ein von *Hoppe-Seyler*[1]) besonders eingehend studiertes Produkt gelinder Säureeinwirkung auf Chlorophyll, das phosphorhaltige Chlorophyllan, für eine einheitliche Substanz. Die Verbindung wurde von dem genannten Forscher in der Weise erhalten, dass er frisches Gras nach längerem Digerieren mit Aether, mit Alkohol kochte und den erkalteten Extrakt nach Abtrennung geringer Mengen von Chrysophyllkrystallen bei mässiger Wärme auf dem Wasserbad eindunstete; der Rückstand wurde mit Wasser zur Entfernung von Salzen und Zucker gewaschen und dann mit Aether aufgenommen. Liess man einen Teil der ätherischen Lösung verdunsten, so bildeten sich körnige Krystalle, die im durchfallenden Licht braun, im auffallenden dunkelgrün gefärbt erschienen und sich in organischen indifferenten Solventien mit bräunlich olivgrüner Farbe und roter Fluorescenz lösten. Schon *Hoppe-Seyler* erkannte, dass das so gewonnene Chlorophyllan kein unverändertes Blattgrün mehr war, und namentlich *A. Tschirch*[2]) hat später überzeugend dargetan, dass seine Bildung auf die Einwirkung der im Rohextrakt befindlichen Pflanzensäuren zurückzuführen ist.

Die Einheitlichkeit dieser aschenhaltigen Substanz wurde hauptsächlich durch die Erfahrungen sehr in Frage gestellt, die man mit weiteren Säurespaltungsprodukten des Chlorophylls machte. Hier haben die wichtigen Arbeiten von *E. Schunck*[3]) die durchsichtigsten Resultate gebracht.

Schunck untersuchte besonders eingehend die Einwirkung von Chlorwasserstoffsäure auf Blattgrün in der Kälte. Er benutzte zur Darstellung und Trennung der dabei entstehenden Verbindungen ein Verfahren, das sich an ältere Methoden

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 3,340 (1879); 4,193 (1880); 5,75 (1881).
[2]) Untersuchungen über das Chlorophyll. Berlin 1884.
[3]) Proc. Roy. Soc. 39,348 (1885); 42,184 (1886); 50,306 (1891).

Frémys [1]) und *Tschirch's* anlehnt und im Folgenden kurz beschrieben sei.

Es werden möglichst konzentrierte Extrakte dargestellt, indem man frische Grasblätter längere Zeit mit Alkohol kocht und die erhaltene Lösung zur Extraktion einer neuen Grasportion benutzt. Nach eintägigem Stehen wird von einer Ausscheidung, im wesentlichen farblosen Beimengungen, in denen Chrysophyllkrystalle eingebettet liegen, abfiltriert und in das Filtrat ein Strom von Chlorwasserstoff eingeleitet. Sofort bildet sich eine dunkelgrüne, fast schwarze Fällung, deren Menge nach längerem Stehen noch zunimmt. Dieser Niederschlag enthält nach *Schunck's* Angabe neben beträchtlichen Mengen verunreinigender Produkte zwei Chlorophyllderivate, das chemisch indifferente Phylloxanthin und die schwache Base Phyllocyanin. Zur Trennung der Beiden wird die Masse mit Aether aufgenommen und die Lösung unter Vermeiden von Erhitzung mit konzentrierter Salzsäure durchgeschüttelt. Letztere löst das Phyllocyanin, während Phylloxanthin im Aether zurückbleibt. Durch Ablassen der salzsauren Flüssigkeit sind die Schichten leicht zu trennen.

Der Phylloxanthin enthaltende Aether wird in flachen Schalen langsam verdunstet und aus den zurückbleibenden braunen Kuchen das Chlorophyllderivat durch vielfache Reinigungsoperationen, hauptsächlich Waschen mit Wasser und wiederholtes Umfällen aus Alkohol-Chloroformlösung, in Form einer amorphen, dunkelgrünen Masse erhalten.

Dem so dargestellten Phylloxanthin fehlt jedes sichere Kriterium seiner Einheitlichkeit. Zur Prüfung der Reinheit diente vornehmlich die Spektralanalyse, die jedoch über die Abwesenheit namentlich farbloser Beimengungen keinen Aufschluss gibt. Demgemäss ist auch für diese Substanz nicht bewiesen, ob ihr Aschengehalt — sie wurde ebensowenig wie Hoppe-Seyler's Chlorophyllan aschenfrei erhalten — konstitutiv ist. Die zur Reinigung angewandte Behandlung mit Lösungsmitteln führte zu so wenig sicheren Resultaten, dass man von der empirischen Zusammensetzung des Phylloxanthins überhaupt noch keine

[1]) Compt. rend. 50,409 (1860); 61,188 (1865); 84,983 (1877).

Kenntnis hat. Eigentliche Krystalle wurden von der Verbindung nicht erhalten, sondern nur zuweilen beim langsamen Verdunsten der aetherischen Lösung zu Rosetten vereinigte krystallinische Fäden. Einen charakteristischen Unterschied vom Phyllocyanin fand *Schunk* in den Absorptionsspektren. Die braungrüne, rot fluorescierende aetherische Lösung des Phylloxanthins besitzt vier Bänder im weniger brechbaren Teil, während das entsprechende Phyllocyaninspektrum deren fünf aufweist. Der Umstand nun, dass Chlorophyllan ebenfalls fünf Absorptionsbänder besitzt, die in ihrer Lage mit denen des Phyllocyanins übereinstimmen, dass es dagegen in anderer Beziehung (besonders durch seinen Aschengehalt) dem Phylloxanthin näher steht, führte zu der Annahme, dass Chlorophyllan ein Gemisch von Phylloxanthin und -cyanin sei.

Phylloxanthin ist in den meisten organischen Solventien löslich, besonders leicht in Chloroform, dagegen schwer in kaltem Alkohol. Es besitzt weder basische noch saure Eigenschaften, erleidet jedoch durch Auflösen in alkoholischen Alkalien eine wesentliche Veränderung, die weiter unten besprochen werden soll.

Durch Einwirkung von konzentrierter Salzsäure entsteht aus Phylloxanthin die schwache Base Phyllocyanin. Diese Umwandlung geht jedoch beträchtlich schwieriger vor sich, als die direkte Bildung von Phyllocyanin aus den rohen Chlorophylllösungen, eine Eigentümlichkeit, die noch keine Aufklärung gefunden hat.

Aus der salzsauren Lösung des Phyllocyanins, wie man sie bei der Trennung von Phylloxanthin erhält, wird nach dem Waschen mit Aether die Substanz durch Zusatz von viel Wasser in dunkelblauen Flocken ausgefällt; diese werden oftmals aus siedendem Eisessig umkrystallisiert. Auch bei der Reinigung dieser Verbindung führte die Behandlung mit Solventien nur sehr schwer zum Ziel, da die Ausbeuten an als rein betrachteten Präparaten stets sehr gering waren. Zur Prüfung auf Einheitlichkeit wurde wiederum die spektroskopische Untersuchung [1])

[1]) Das fünfte Absorptionsband der verdünnten ätherischen Lösung, welches Phyllocyanin charakteristisch von Phylloxanthin unterscheidet, liegt noch in der schwächer brechbaren Spektrumhälfte dicht vor der Linie F.

angewandt, der auch in diesem Falle keine ausschlaggebende Bedeutung zugesprochen werden kann, so lange wenigstens nicht das Spektrum des auf anderem Wege als rein erkannten Phyllocyanins scharf charakterisiert ist.

Schunck gewann die Verbindung als dunkelblaue krystallinische Masse, die unter dem Mikroskop rhomboidale oder sechsseitig begrenzte Blättchen erkennen liess. Indifferente Lösungen sind olivgrün gefärbt mit roter Fluorescenz, salzsaure sind grünlich blau. [1]) In den Löslichkeitsverhältnissen steht Phyllocyanin dem Phylloxanthin ziemlich nahe, scheint sich jedoch in kaltem Alkohol etwas leichter zu lösen. Einen Schmelzpunkt besitzt es nicht, sondern liefert bei vorsichtigem Erhitzen ein zum Teil krystallinisches Sublimat; bei 180° findet vollständige Zersetzung statt.

Ueber die Zusammensetzung der Phyllocyanine der verschiedenen Autoren liegen ganz beträchtlich differierende Angaben vor. Diese Unsicherheiten finden zum Teil ihre Erklärung in der ausserordentlichen Schwierigkeit, einwandfrei reine Präparate in für die Analyse ausreichender Menge zu erhalten.

Von *Schunck* sind eine Reihe eigenartiger Doppelverbindungen seines Phyllocyanins, sowie auch von Phylloxanthin und dem später zu erwähnenden Phyllotaonin, mit Metallsalzen organischer Säuren dargestellt worden. Diese komplexen Salze finden am Schluss des experimentellen Teils eingehendere Besprechung. Hier sei nur hervorgehoben, dass in ihnen das Chlorophyllderivat vollständig maskiert ist und entweder sehr schwierig oder überhaupt nicht regeneriert werden kann, während beispielsweise die gewöhnlichen Salze des Phyllocyanins bei Anwesenheit eines Ueberschusses von Wasser sofort in ihre Komponenten dissoziieren.

Gewisse Angaben der Litteratur lassen die Frage aufkommen, ob das von *Schunck* beschriebene Phyllocyanin wirklich das typische Endprodukt aller (in der Kälte verlaufenden) Salzsäurespaltungen des Chlorophylls sei. In dieser Beziehung

[1]) Nach *Marchlewski's* neuerer Angabe ist die salzsaure Lösung des Phyllocyanins dunkelgrün (vergl. *Roscoe-Schorlemmers* Lehrbuch, 8. Band, pag. 867 (1901).

ist besonders eine Verbindung von Interesse, welche *A. Tschirch*[1]) nach einem etwas modifizierten Verfahren der Säureeinwirkung dargestellt hat. Er behandelte nämlich den Eindampfrückstand alkoholischer Pflanzenextrakte mit heissem Wasser, bis von diesem nichts mehr herausgelöst wurde und digerierte dann die Masse mit rauchender Salzsäure, welche Chlorophyllsubstanz mit tiefblauer Farbe aufnahm. Die durch Wasser ausgefällte Base wurde nochmals in Salzsäure gelöst und wie zuerst in Freiheit gesetzt. Hierauf wurde mit Alkohol aufgenommen, die Lösung eingedampft und der Rückstand mehrmals aus Chloroform oder Alkohol umkrystallisiert, wobei man einen Teil als unlöslich in Chloroform verwarf.

Tschirch nannte das so erhaltene Produkt Phyllocyaninsäure, weil es im Gegensatz zu der *Schunck*'schen Verbindung mit Alkalien und überhaupt Metalloxyden reagieren soll, ohne Veränderung zu erleiden. Ausserdem weicht die Phyllocyaninsäure in ihren Eigenschaften von dem Phyllocyanin z. B. noch bezüglich der Absorption der stärker gebrochenen Strahlen, sowie auch der Farbe der salzsauren Lösung ab. Ueber die Identität der beiden Substanzen oder ihre Beziehungen zu einander herrscht noch keine Klarheit. Vielmehr scheinen die Angaben darauf hinzudeuten, dass hier recht komplizierte Verhältnisse vorliegen — eine Vermutung, die sich im Verlaufe der nachfolgenden Untersuchung als nicht unbegründet erwies.

Insbesondere ist die Einwirkung von Alkalien auf Phyllocyanin noch nicht genügend aufgeklärt. Mit verdünnter Natron- oder Kalilauge behandelt, löst sich die Verbindung nach einiger Zeit völlig auf. In der Lösung soll nun ein Umwandlungsprodukt des Phyllocyanins, das später zu besprechende Phyllotaonin[2]) vorliegen. Die Beweise für diesen Verlauf des Prozesses stützen sich vorläufig nur auf spektralanalytische Beobachtungen, wobei namentlich darauf Gewicht gelegt wurde, dass das Reaktionsprodukt beim Kochen mit Eisessig eine das Spektrum des Acetylphyllotaonins zeigende Substanz ergab, und dass

[1]) Ber. deutsch. botan. Ges. 14, 86 (1896).

[2]) Dasselbe Phyllotaonin soll bei der gleichen Behandlung aus Phylloxanthin erhalten werden.

letzteres auf gleiche Weise aus Phyllotaonin zu erhalten ist. Es sei jedoch erwähnt, dass gerade über das spektroskopische Verhalten des Phyllotaonins noch keine ganz sicheren Angaben gemacht sind.

Zu demselben Phyllotaonin soll man durch Eindampfen der konzentriert salzsauren, mit Alkohol vermischten Lösung des Phyllocyanins gelangen. Auch hierbei wurde lediglich die Spektralanalyse zur Untersuchung der entstehenden Produkte verwandt.

Das Phyllotaonin konnte jedoch auf andere Weise in wohlcharakterisiertem Zustand erhalten werden, nämlich auf dem Wege über das primäre Einwirkungsprodukt von Alkalien auf Chlorophyll, das sogenannte Alkachlorophyll.

Mit dem Studium dieser Substanz haben sich am eingehendsten *A. Hansen* [1]) und *E. Schunck* [2]) beschäftigt. Ersterer kochte alkoholische Blätterextrakte, *Schunck* dagegen die alkoholische Lösung eines dunkelgrünen Absatzes, der sich nach einigem Stehen im Extrakt [3]) bildete, längere Zeit mit Aetznatron; hierbei blieb die grüne Farbe des Chlorophylls unverändert bestehen. Im Folgenden sei die neuere, *Schunck*'sche Methode der Isolierung von Alkachlorophyll kurz angeführt.

In der alkoholisch alkalischen Lösung wird nach vorausgegangener Filtration durch Einleiten von Kohlensäure eine Fällung hervorgerufen; diese isoliert man und wäscht sie zur Entfernung von gelben Farbstoffen mit kaltem Alkohol. Das so gewonnene unreine Alkachlorophyllnatronsalz wird zur Reinigung in Wasser gelöst und darauf mit gesättigter Salzlösung wieder ausgefällt. Den Niederschlag nimmt man nun mit siedendem Alkohol auf behufs Entfernung alkoholunlöslicher Substanz und dampft die vorher filtrierte Flüssigkeit ein. Der Rückstand löst sich in Wasser mit rein grüner Farbe. Durch vorsichtiges Ansäuern mit Essigsäure wird aus dieser Lösung das Alkachlorophyll in Freiheit gesetzt, worauf man es mit Aether extrahieren kann. Zur weiteren Reinigung erwies sich das Ausfällen mit Petroläther aus ätherischer Lösung als zweckmässig.

[1]) Die Farbstoffe des Chlorophylls, Darmstadt 1889.

[2]) Proc. Roy. Soc. 50, 312 (1891).

[3]) *Schunck* wandte 80-prozentigen Alkohol zur Extraktion an; er benutzte frische, *Hansen* getrocknete Blätter.

Das so gewonnene Produkt hielt *Schunck* für sehr beständig gegenüber Alkalien, eine Annahme, die sich jedoch nur darauf gründet, dass durch das Kochen mit Alkali seine schönen Farberscheinungen nicht beeinflusst werden. Ob aber dabei Veränderungen in seiner empirischen Zusammensetzung eintreten, konnte schon deshalb nicht festgestellt werden, weil über diese überhaupt keine genauen Angaben vorliegen. Auch bietet die oben beschriebene Methode der Reinigung ebenso wenig wie die spektroskopische Untersuchung eine Gewähr für die Einheitlichkeit des Alkachlorophylls. Besonders erschwert wird die Reindarstellung der Verbindung durch ihre ausserordentliche Empfindlichkeit gegen Säuren. Die sofort eintretende Veränderung bei kurzer Einwirkung auch ganz schwacher Säuren ist leicht daran zu erkennen, dass die schön blaugrüne, stark rot fluorescierende Farbe, welche die Substanz in indifferenten Solventien zeigt, hierbei in unreine Farbtöne umschlägt.

Das Alkachlorophyll lässt sich nach *Schunck* aschenfrei als amorphe dunkelblaugrüne Masse gewinnen. Krystallisiert ist es noch nicht erhalten worden. Das Spektrum der ätherischen Lösung ist durch fünf Absorptionsbänder charakterisiert, abgesehen von der Absorption des äussersten Rot und des ganzen Blauviolett.

Da in neutralen Solventien die Farbe des Alkachlorophylls der des unveränderten Blattgrüns recht ähnlich ist, haben viele Autoren, u. a. auch *Hansen*, durch Alkali modifizierte Chlorophylle in Händen gehabt, ohne die eingetretene Umwandlung zu erkennen.

Dieser Irrtum liegt besonders nahe bei Produkten sehr gelinder Einwirkung von alkalischem Reagens. So erhielt *W. N. Hartley* [1]) durch Behandlung von alkoholischen Pflanzenextrakten mit wässriger Baryumhydratlösung eine baryumhaltige Fällung, aus der er mit Hilfe einer Glycerin-Alkohollösung von Borsäure sein „blaues Chlorophyll“ isolierte. In dieser Substanz liegt nach *Hartley's* Angabe unverändertes Chlorophyll vor. Auch *Guignet* [2]) nahm an, dass Chlorophyll eine Säure sei und

[1]) Journ. Chem. Soc. 59, 106 und 85, 1607.

[2]) Compt. rend. 100, 434.

dass es sich bei der Einwirkung von alkoholischem Alkali in der Kälte ohne weitere Veränderung in ein Salz überführen lasse.

Diesen Ansichten traten *L. Marchlewski* und *C. A. Schunck*[1]) entgegen. Abgesehen von beobachteten Unterschieden der Absorptionsspektren fanden sie nämlich bei ihren Untersuchungen über die Säurespaltungsprodukte der betreffenden Verbindungen, dass z. B. aus dem „blauen Chlorophyll" durch Behandlung mit Säure Substanzen von dem ausgesprochenen Habitus der Körper gebildet werden, welche aus dem *Schunck*'schen Alkachlorophyll durch Einwirkung von Säure entstehen. Letztere unterscheiden sich aber sehr charakteristisch von Phylloxanthin und Phyllocyanin, den direkten Säurespaltungsprodukten des unveränderten Blattgrüns. Hiermit ist erwiesen, dass die Hartley'sche Verbindung zum wenigsten dem Alkachlorophyll weit näher steht als dem Chlorophyll selbst, zumal dieses keine sauren Eigenschaften besitzt und in ätherischer Lösung mit wässerigen Alkalien nicht reagiert.

E. Schunck[2]) erhielt aus seinem Alkachlorophyll durch Behandlung mit alkoholischer Chlorwasserstoffsäure in der Kälte nelkenrot gefärbte esterartige Substanzen, die ihm sehr leicht beim Verseifen sein Phyllotaonin lieferten. Die primär entstehenden alkaliunlöslichen Produkte nannte er daher Phyllotaoninäther, ohne jedoch als bewiesen anzunehmen, dass sie wirkliche Ester des Phyllotaonins seien, zumal sie aus letzterem nicht wieder regeneriert werden konnten.

Diese Aether (die Aethyl- und Methylverbindung) stellte *Schunck* meist ohne vorherige Isolierung des Alkachlorophylls dar, indem er in die kalte alkoholisch alkalische Lösung des Alkachlorophyllnatronsalzes Chlorwasserstoff bis zum Eintreten saurer Reaktion einleitete. Dabei hellt sich die Flüssigkeit vorübergehend auf, um schliesslich purpurfarbig zu werden. Nach mehreren Tagen haben sich auf den Wänden des Gefässes in sehr geringer Ausbeute Krystalle angesetzt, die isoliert und noch einer Reihe von Reinigungsoperationen mit Lösungsmitteln unterzogen werden.

[1]) J. pr. Ch. 62, 247 (1900).

[2]) Proc. Roy Soc. 44, 448 (1888); 55, 351 (1894).

Der bei Anwendung von Aethylalkohol erhaltene Phyllotaoninaether krystallisiert gut in häufig zu Sternen vereinigten Nadeln, die in Alkohol schwer, in Chloroform sehr leicht löslich sind. Die ätherische, ein Spektrum von fünf Bändern aufweisende Lösung ist rötlich grau oder schmutzig purpurn, die salzsaure grünlich blau.

Dem Aethylaether sehr ähnlich ist die Methylverbindung und eine durch Kochen von Alkachlorophyll mit Eisessig darstellbare Acetylverbindung des Phyllotaonins.

Phyllotaonin selbst wird aus diesen Substanzen durch gelindes Kochen mit alkoholischem Alkali erhalten. Aus seinem Natronsalz, das sich beim Erkalten der alkoholisch alkalischen Lösung abscheidet, lässt es sich durch Essigsäure in Freiheit setzen und kann zur Reinigung beispielsweise aus Aether umkrystallisiert werden.

Die Ausbeuten an Phyllotaonin und seinen Aethern waren recht schwankend; manchmal wurden die Rohprodukte in relativ beträchtlichen Mengen gewonnen. So erhielt *Schunck* beispielsweise einmal 4,5 g Rohäthylphyllotaonin aus 1 kg trockenem Grase. In der Regel waren jedoch die Ausbeuten bedeutend geringer, aber immerhin ausreichend für eine eingehendere analytische Untersuchung der Verbindungen. Nach den hierbei gefundenen Werten wurden folgende Formeln [1]) aufgestellt:

Phyllotaonin	$C_{40}H_{39}N_6O_5OH$
Aethylphyllotaonin	$C_{40}H_{39}N_6O_5OC_2H_5$
Methylphyllotaonin	$C_{40}H_{39}N_6O_5OCH_3$
Acetylphyllotaonin	$C_{40}H_{39}N_6O_5OCOCH_3$,

die anscheinend auch den experimentell gefundenen Molekulargewichten entsprechen.

Phyllotaonin [2]) besitzt neben basischen auch ausgesprochen saure Eigenschaften, indem es sich nicht nur in Salzsäure, sondern auch in wässrigen Alkalien unverändert löst. In den Farben unterscheiden sich diese Lösungen wenig von den entsprechenden des Phyllocyanins. Die Aehnlichkeit der Farb-

[1]) *Roscoe-Schorlemmers* Lehrbuch, VIII. Band pag. 881 (1901).

[2]) Vgl. auch: *E. Schunck* und *L. Marchlewski, Liebigs* Ann 278, 329 (1894).

erscheinungen beider Substanzen tritt besonders in indifferenten Solventien zu Tage, sodass *Schunck* die Spektren der ätherischen Lösungen sogar für identisch halten konnte, während *Marchlewski* für das Phyllotaoninspektrum sechs Absorptionsbänder annimmt. Ueberhaupt bedürfen einige Eigentümlichkeiten im spektroskopischen Verhalten des Phyllotaonins noch weiterer Aufklärung.

Sehr charakteristisch ist die schön violette Farbe seiner Eisessiglösung, und hierin unterscheidet es sich scharf von Phyllocyanin, das sich in Eisessig mit unverändert oliver Farbe löst.

Phyllotaonin krystallisiert beim freiwilligen Verdunsten seiner ätherischen Lösung in stahlblauen mikroskopischen Prismen,[1]) die in Wasser und Ligroin unlöslich, in warmem Alkohol und Aether, sowie den meisten anderen organischen Solventien leicht löslich sind; sie schmelzen bei 184° unter teilweiser Zersetzung.

Ob und wie sich Phyllotaonin durch energische Säureeinwirkung verändert, ist noch nicht eingehend untersucht worden.

Dagegen gelangte man durch Behandlung mit Alkali bei höherer Temperatur über ein noch nicht näher charakterisiertes Zwischenprodukt, das Phyllorubin,[2]) zu dem eingangs besprochenen Phylloporphyrin. Während Phyllorubin nur in indifferenten Solventien rot erscheint und in salzsaurer Lösung noch grün ist, zeigt das Endprodukt Phylloporphyrin[3]) keine grünen Farberscheinungen mehr. Es ist in neutralen Lösungsmitteln carmoisinrot, rot fluorescierend und löst sich in Mineralsäuren sowie Eisessig mit rotvioletter Farbe.

[1]) Die hemipyramidalen, an Phyllotaoninkrystallen beobachteten Begrenzungsflächen führt *Marchlewski* als Stütze für seine interessante Hypothese an, dass die Chlorophyllmolekel asymmetrisch gebaut sei und infolgedessen neben der Rolle eines Sensibilisators die eines mittelbaren Werkzeugs bei der Bildung asymmetrischer Komplexe, wie *Glucose*, besitze

[2]) *L. Marchlewski,* J pr. Ch 61, 289 (1900)

[3]) *E. Schunck,* Proc. Roy. Soc. 57, 314 (1895); *E. Schunck* und *L. Marchlewski, Liebigs* Annal. 284, 92 (1894).

Zu seiner Darstellung wird Phyllotaonin oder dessen Aether – auch Phyllocyanin kann angewandt werden — im geschlossenen Rohre mit alkoholischem Kali auf 190° mehrere Stunden erhitzt. Das hierbei entstehende Phylloporphyrin kann dann verhältnismässig leicht mit Hilfe einer gut krystallisierenden Zinkverbindung vollkommen gereinigt werden. Nachdem diese Reinigungsmethode einmal gefunden war, konnte festgestellt werden, dass einige schon früher auf ähnlichem Wege erhaltene rote Produkte, wie die Dichromatinsäure *Hoppe-Seylers*[1]) und *Tschirch's*[2]) Phyllopurpurinsäure, das Phylloporphyrin von *Schunck* und *Marchlewski* neben mehr oder weniger beträchtlichen Mengen verunreinigender Substanzen enthielten.

Phylloporphyrin ist die stärkste Base von allen bisher besprochenen Chlorophyllabkömmlingen; aus salzsaurer Lösung geht es auch nach starker Verdünnung mit Wasser nicht in Aether. Seine sauren Eigenschaften sind dagegen wenig ausgesprochen. Es bildet zwar ein Alkalisalz, das aber in Wasser so gut wie gar nicht löslich ist. Ob das leicht zersetzliche, mit Zinkacetat erhaltene Produkt, welches die völlige Reinigung der Verbindung ermöglichte, zu den komplexen Doppelsalzen zu rechnen ist, wurde noch nicht entschieden.

Phylloporphyrin krystallisiert in dunkelrot-violett gefärbten Prismen, die in Alkohol und Aether ziemlich schwer löslich sind.

Sein spektroskopisches Verhalten ist sehr charakteristisch. Die ätherische Lösung besitzt ein Spektrum mit sieben gut markierten Absorptionsbändern zwischen dem äussersten Rot und der F-Linie. In Salzsäure dagegen sind nur drei Bänder in der weniger gebrochenen Spektrumhälfte sichtbar. Im allgemeinen scheint also mit fortschreitendem Abbau eine Vermehrung der Absorptionsbänder in indifferenten Solventien verbunden zu sein.

Eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Phylloporphyrin zeigt das Phylloerythrin[3]), ein im tierischen Organismus entstehendes Umwandlungsprodukt des Chlorophylls, das vor einigen Jahren

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 4.193 (1880); 5,75 (1881)

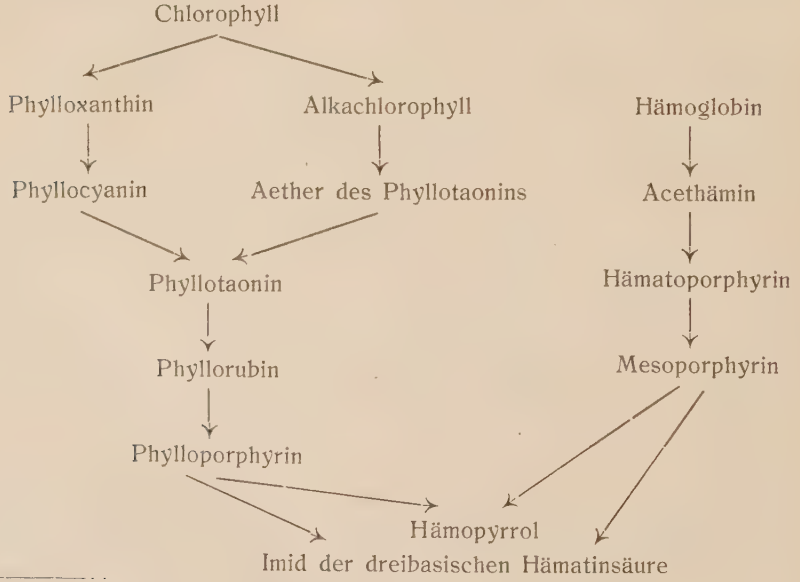
[2]) l. c.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 41,33 (1904); 43,464 (1904); 45,466 (1905).

von *L. Marchlewski* in wohlausgebildeten Krystallen erhalten wurde. Diese Substanz gewinnt an Interesse, da *Marchlewski* nachwies, dass sie mit dem Gallenfarbstoff Cholehämatin identisch ist.

Kurz vorher hatte *E. Schunck*[2]) ein auf analoge Weise entstehendes Chlorophyllderivat in krystallisiertem Zustand gewonnen. *Schunck* nannte seine Verbindung, welche nach ihren Eigenschaften dem Phyllocyanin am nächsten steht, Scatocyanin. Dieses Produkt sowohl wie Phylloerythrin wurden aus den Fäces von Kühen isoliert, die vorher ausschliesslich mit frischem Gras gefüttert worden waren.

Es ist jedoch noch nicht gelungen, die beiden Verbindungen mit andern Chlorophyllderivaten in einen genetischen Zusammenhang zu bringen. Deshalb fehlen sie auch in der folgenden Tabelle, welche die bisher studierten Umwandlungen des Blattgrüns[3]) sowie seine Beziehungen zum Blutfarbstoff erläutert.



[2]) Proc. Roy. Soc. 69,307 (1902).

[3]) Neuere zusammenfassende Referate über die Chlorophyllforschung finden sich in *Roscoe-Schorlemmers* Lehrb., herausg. von *Brühl*, VIII. Band pag. 839 ff. (1901), und Chem. Zeit. Jahrg. 27 pag. 451 (1903), beide von *L. Marchlewski* verfasst.

Theoretischer Teil.

1. Methode der Fraktionierung.

Schon aus den kurzen Angaben der Einleitung ist zu ersehen, dass die vorläufigen Stationen des Chlorophyllabbaus vom Reinchlorophyll bis zum Phylloporphyrin noch nicht mit gleicher Sicherheit markiert sind. Ueberhaupt gewinnt man beim Studium der ausgedehnten Litteratur über das Blattgrün den Eindruck, dass es meist ausserordentlich schwierig ist, mit Hilfe der gewöhnlichen Reinigungsmethoden, wie Umkrystallisation und Fällung aus Lösungsmitteln, einwandfrei reine gefärbte Derivate des Chlorophylls darzustellen. Diese Schwierigkeiten wurden in erster Linie dem Auftreten schwer abzutrennender farbloser Beimengungen zugeschrieben. Eine andere, weit wichtigere Erklärung dafür findet sich jedoch, wenn man einfache Umwandlungen des Blattfarbstoffs genauer untersucht. Bei derartigen Versuchen kam ich zu der Erkenntnis, dass die Reaktionsprodukte gewöhnlich aus Gemischen bestehen, für deren Untersuchung und Trennung noch keine Methoden existieren. Als Beispiele für diese Erfahrung sind im experimentellen Teile zwei Versuche beschrieben, die gewisse Aehnlichkeit mit den Verfahren zeigen, welche zur Darstellung des Phyllotaonins durch Alkalieinwirkung aus Phyllocyanin, resp. Phylloxanthin einerseits und der Alkyläther des Phyllotaonins andererseits führten. Dabei entstehen Gemenge hochmolekularer Substanzen, die teils die nämliche, teils sehr ähnliche Zusammensetzung besitzen, und in ihren Reaktionen, ihren Farberscheinungen sowie im Verhalten gegen Lösungsmittel grosse

Uebereinstimmung aufweisen. Solange die Reaktionsprodukte gemischt vorlagen, war ihre Krystallisation ausgeschlossen oder erschwert.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass auch frühere Autoren im allgemeinen Gemische von Abbauprodukten in Händen hatten. So erscheint es nach den gemachten Erfahrungen wenig glaubhaft, dass aus Phyllocyanin durch Alkali- wie Säureeinwirkung ein und dieselbe einheitliche Substanz, das Phyllotaonin, entsteht. Durch die üblichen Reinigungsmethoden mit Lösungsmitteln mochte es wohl gelingen, fettartige Beimengungen zu beseitigen, aber man lief Gefahr, aus Gemischen willkürlich irgend welche Bruchteile herauszuholen. Als Beispiel dafür seien *E. Schuncks* [1]) Analysen der Phyllotaoninäther angeführt:

	C	H	N
Aethylphyllotaonin: mehrmals mit Alkohol aus Chloroform gefällt	68,73	5,87	12,33
dasselbe, weitere vier Male mit Alkohol aus Chloroform gefällt	69,22	6,04	11,40
Methylphyllotaonin, erstes Präparat . . .	70,27	5,89	9,89
dasselbe, siebenmal mit Alkohol aus Chloroform gefällt	68,82	6,00	11,93

Hier scheint bei analoger Reinigung der Aethylester stickstoffärmer, der Methylester weit stickstoffreicher geworden zu sein.

Zur Untersuchung der bei Chlorophyllabbauversuchen entstehenden Produkte wurde bisher gewöhnlich, von vielen Forschern sogar ausschliesslich die Spektralanalyse angewandt, und zwar nicht die viel zu schwierige vollständige Beobachtung der Absorption, sondern nur die Feststellung der Maxima. Diese spektroskopische Methode hat zwar speziell beim Vergleich von Hämato- und Phylloporphyrin, sowie beispielsweise auch bei der Untersuchung des gegen chemische Agentien äusserst empfindlichen Chlorophyllfarbstoffs selbst sehr wertvolle Dienste geleistet. Andererseits hat sie jedoch bekanntlich nicht vor schweren Irrtümern zu schützen vermocht. So kam es vor, dass man ein später als Zinkverbindung von Phyllocyanin er-

[1]) Proc. Roy. Soc. 55, 352 (1894).

kanntes Produkt infolge der vollkommenen Aehnlichkeit der Spektren für unverändertes Reinchlorophyll hielt. Selbst bei dem wohlcharakterisierten Phyllotaonin herrscht noch keine Sicherheit bezüglich der Anzahl seiner Absorptionsbänder, und die Frage der Identität des *Schunck*'schen Phyllocyanins und der *Tschirch*'schen Phyllocyaninsäure konnte auf spektroskopischem Wege nicht gelöst werden. Im übrigen genügen bei vielen Chlorophyllderivaten die geringsten Spuren von Säuren, um eine totale Veränderung des Spektrums neutraler Lösungen hervorzurufen.

Es erschien deshalb wünschenswert, zu einer von der Spektralanalyse unabhängigen zuverlässigeren Untersuchungsmethode zu gelangen. Eine Handhabe hiefür bot die eigentümliche basische Natur vieler Abkömmlinge des Blattgrüns. Im allgemeinen kann man sagen, dass die Basicität dieser Verbindungen mit vorschreitendem Abbau zunimmt, eine Annahme, welche durch die hier zu beschreibenden Versuche bestätigt wurde. Chlorophyll selbst und Phylloxanthin besitzen weder basischen noch sauren Charakter, doch schon Phyllocyanin ist eine schwache, Phyllotaonin höchst wahrscheinlich eine stärkere Base; die beiden letzteren enthalten auch saure Gruppen. Phylloporphyrin schliesslich besitzt anscheinend ziemlich stark basische Eigenschaften.

Im Verlaufe dieser Untersuchung ergab sich nun, dass auch die gefärbten Säurespaltungsprodukte des Alkachlorophylls, sowie alle im Abbau zwischen Phylloxanthin und Phylloporphyrin stehenden Substanzen mehr oder minder schwache, in Salzsäure lösliche Basen sind. Die Beispiele, an denen das neue Verfahren erläutert werden soll, gehören zwei Reihen von Verbindungen an. Die einen, bestehend in Produkten der Einwirkung von Alkali auf einen chlorophyllanartigen Extrakt und ihren durch Säure gebildeten Abkömmlingen, zeigen in indifferenten Solventien olivgrüne bis grüne, in saurer Lösung blaugrüne bis blaue Farbe. Die Glieder der zweiten Gruppe, die hauptsächlich aus Alkachlorophyllen bei der Behandlung mit alkoholischer Chlorwasserstoffsäure erhalten wurden, zeigen zwar in saurer Lösung ähnliche blaue bis grüne Farbe, sind

aber in neutralen Lösungen prächtig rot gefärbt. Für die Substanzen dieser zwei Reihen wurde die Bezeichnung Phytochlorine und Phytorhodine gewählt und die verschiedene Glieder vorläufig mit a, b etc. benannt, weil die Bedeutung der Einzelnen und der Zusammenhang zwischen ihnen sich noch nicht hinlänglich für eine endgültige Namengebung beurteilen lässt.

Die Phytochlorine und Phytorhodine sind in Wasser unlöslich, in organischen Solventien mehr oder weniger löslich. Als schwache Säuren lösen sie sich in Alkalien, auch in Ammoniak und Bikarbonat und werden aus ätherischer Lösung quantitativ davon aufgenommen. Sie enthalten kein Phenolhydroxyl, sondern nur eine esterifizierbare saure Gruppe; ihre Ester sind alkaliunlöslich. Alle sind schwache Basen, deren Salze durch Wasser vollständig zerlegt werden. Dabei sind ihre basischen Eigenschaften ungleich differenzierter als ihre sauren und zeigen Unterschiede und Abstufungen, wie sie bei schwachen organischen Basen noch nicht beschrieben worden sind.

Um aus ätherischer Lösung in Salzsäure, die im Ueberschusse angewandt wird, überzugehen, erfordern diese Verbindungen Säure von bestimmter Konzentration. Schwefelsäure und gar Phosphorsäure sind praktisch weniger gut anzuwenden, weil die nötigen Konzentrationen recht hoch sind. Für jede einzelne Substanz sind Grenzen charakteristisch, so zwar, dass Salzsäure bis zu einer gewissen Stärke der ätherischen Lösung nichts oder nur Spuren, eine etwas konzentriertere einen grossen Teil, endlich eine noch stärkere so gut wie alles bei einmaligem Durchschütteln entzieht. Die Konzentration der ätherischen Lösung und die Menge der Salzsäure üben selbstverständlich auf das Resultat einen gewissen Einfluss aus, den man bei der praktischen Anwendung berücksichtigen muss. Natürlich rücken die Grenzen, je stärker die Basen sind, desto enger zusammen, wenn man nicht die relative Konzentration der Chlorwasserstoffsäure, sondern den Prozentgehalt der Salzsäure in Betracht zieht. Ueber die Grenzen bei den Phytochlorinen orientiert folgende Tabelle:

Phyto-chlorin	Spuren gehen in Salzsäure von	Geht sehr reichlich in Salzsäure von	Geht fast vollständig in Salzsäure von	Pro-zent
a	3.5	6 5	7.5	„
b	1.5	3.5	5	„
c	0.5	1.5	2	„
d	0.15	0.5	1	„

Den Beobachtungen liegen normale Arbeitsbedingungen zu Grunde, d. h. ein bis zwei ccm ätherische Lösung, die 0,2 bis 0,3 g Substanz in 100 ccm enthält, wurden mit demselben Volumen Salzsäure einmal durchgeschüttelt. Mit verdünnteren Lösungen wurde für die Phytochlorine a und b die Verteilung zwischen Aether und Salzsäure quantitativ untersucht.

Drei Portionen von je 0,100 g Substanz wurden in je 100 ccm Aether gelöst und mit je 100 ccm Salzsäure fünf Minuten lang durchgeschüttelt. Dann trennte ich die Schichten und dunstete die mit wenig Wasser gewaschene ätherische Lösung vorsichtig ein; der Rückstand wurde im Vakuum über Schwefelsäure zur Konstanz getrocknet. Die nachstehende Tabelle verzeichnet die von den verschiedenen Salzsäuren aufgenommenen Anteile.

Phytochlorin	Prozentgehalt der Salzsäure	Aufgenommene Substanz in Prozenten
a	8	84.1
a	7	73.8
a	6	60.7
b	5.5	74.4
b	4	54.7
b	2.5	26.4

Auf der verschiedenen Basicität beruht die Möglichkeit der Trennung. Das Beispiel der Phytochlorine a und b diene wiederum zur Beschreibung. Ich erhielt sie gemengt mit schwächer basischen Substanzen. Schüttelt man die ätherische Lösung[1]) wiederholt mit 4-prozentiger und 7-prozentiger Salzsäure

[1]) Es ist natürlich nicht notwendig, mit der Lösung des Gemisches zu arbeiten, aber die Anwendung in gepulverter Form führt viel schwerer zum Ziel. Bei den ganz wenigen in Aether unlöslichen Verbindungen, die ich im Laufe dieser Untersuchung fand, war eine Fraktionierung mit Säure aus Aether-Chloroform-Lösung möglich; auch sonst liessen sich diese Substanzen eben durch ihre Unlöslichkeit in Aether leicht isolieren.

durch, und wäscht man die beiden sauren Lösungen gründlich mit Aether, um die in jedem Falle mit aufgenommenen schwächeren Basen wieder herauszuholen, so gelingt es, einen ansehnlichen Teil von a und b in ziemlich reinem Zustande zu isolieren. Genauere Angaben über diese sowie die im Folgenden angeführten Trennungsmethoden finden sich im experimentellen Teil.

Viel besser ist eine zweite Ausführungsweise der Fraktionierung. Ihr Prinzip besteht darin, die Verbindungen in der Reihenfolge ihrer Basicität mit so schwachen Säuren zu extrahieren, dass von den nächst schwächeren Basen nur minimale Spuren gelöst werden können.

Natürlich muss man die stärksten Säuren anwenden, die dieser Bedingung noch genügen. So isoliert man im Fall der Phytochlorine b mittels 3-prozentiger Salzsäure. Da diese aber die b-Verbindung nicht quantitativ aus dem Aether herausholt, ist es notwendig, danach durch wiederholtes Ausschütteln mit 4,5-prozentiger Säure eine Mittelfraktion abzutrennen, ehe man an die Extraktion von a geht. Hiefür dient nunmehr 6-prozentige Säure. Auch diesmal sind die (3- bezw. 6-prozentig) salzsauren Lösungen der Phytochlorine mit Aether zu waschen. Dann erhält man schon bei der einmaligen Fraktionierung die Substanzen in reinem Zustand.

Etwas abgeändert wird das Verfahren, um die Chlorophyllderivate vollkommen zu reinigen, wenn sie schon ziemlich rein vorliegen, beispielsweise so, wie sie bei der ersten, hinsichtlich der Ausbeute vorteilhafteren Art des Trennungsverfahrens erhalten wurden. So löst man Phytochlorin a in Aether auf, wäscht die Lösung mehrmals mit wenig 4,5-prozentiger Salzsäure durch und extrahiert dann die Base mit 6,5-prozentiger Säure. Analog kann man b mit 3,5-prozentiger Salzsäure isolieren. Eine derartige Anwendung etwas stärkerer Säuren empfiehlt sich auch sonst, wenn es sich nicht gerade darum handelt, durch einmalige Fraktionierung absolut reine Präparate zu erhalten. Von der Reinheit der isolierten Verbindungen überzeugte ich mich in der Weise, dass ich sie durch Salzsäuren wieder in Fraktionen zerlegte; die Identität dieser letztern

war dann beweisend für die Einheitlichkeit der betreffenden Substanz.

Die Basicitätsunterschiede zwischen den bei einer Chlorophyllspaltung nebeneinander entstehenden Verbindungen sind nun nicht immer gleich gross, auch wenn man davon absieht, dass die Grenzen bei stärkeren Basen näher zusammenrücken. Demgemäss ist auch in jedem Falle die Fraktionierungsmethode nach dem oben erwähnten Prinzip zu modifizieren. Bei dem später zu beschreibenden Phytorhodin f liegen beispielsweise die Verhältnisse für die Reindarstellung nicht so günstig wie bei anderen Phytorhodinen. Es wird also für die Gewinnung von Chlorophyllderivaten zweckmässig sein, Spaltungsverfahren auszuarbeiten, bei denen Produkte mit derartigen Basicitätsgrenzen entstehen, die eine möglichst einfache und verlustlose Isolierung erlauben. Das wird um so leichter gelingen, je mehr Einblick man in die komplizierten wechselseitigen Beziehungen der einzelnen Substanzen gewinnt, ein Bestreben, das durch die Fraktionierungsmethode mit Salzsäure wesentlich gefördert zu werden verspricht.

Denn nicht weniger wertvoll als für die Trennung ist diese letztere für die qualitative Analyse, nämlich für die Bestimmung der Abkömmlinge des Chlorophylls. Bei allen möglichen Reaktionen, die zu einigermassen basischen Stoffen führen, kann man die Reaktionsprodukte schon im Reagensglas[1]) untersuchen, indem man die ätherischen Lösungen mit Salzsäuren von abgestufter Konzentration durchschüttelt. Man beobachtet, ob die Produkte Gemische oder einheitlich sind und vermag sie nach ihrer Basicität einzuordnen. Die geringsten Veränderungen der beschriebenen Chlorophyllderivate beim Trocknen in der Wärme oder beim Aufbewahren wurden dadurch auffällig.

Anwendbar für die Isolierung und Bestimmung ist die Methode gerade bei diesen gefärbten Stoffen. Es ist nur hier leicht möglich, für jeden Fall die zur Isolierung geeigneten Säuren auszuprobieren und nach der Farbintensität der Auszüge den extrahierten Anteil zu schätzen. Dabei ist wichtig, ver-

[1]) Es wurden Tropftrichter in Reagensglasform verwandt.

schiedene Auszüge einer Substanz hinsichtlich der Farbnuance zu vergleichen, um zu beurteilen, ob sie einheitlich ist.

Eine ähnliche Trennung der Chlorophyllderivate mit Alkalien ist nicht möglich, da ihre Alkalisalze im allgemeinen nicht hydrolytisch gespalten werden; aber man kann natürlich mit Hilfe von Alkalien nach den gemeinhin üblichen Methoden fraktionieren. So wurde z. B. bei der Reinigung des oben erwähnten Phytorhodin f verfahren, dem nach einer rohen Fraktionierung mit Salzsäure noch recht ähnlich basische Verbindungen beigemengt waren, derart, dass man den zur Neutralisation erforderlichen Betrag von Alkali sehr verdünnte, in eine Reihe von Portionen teilte und mit diesen successive die ätherische Lösung ausschüttelte. Dann wurden die wieder in Aether gebrachten Fraktionen nach ihrer Farbe beurteilt.

Eine solche Ergänzung der in saurer Lösung ausgeführten Fraktionierung ist nur ausnahmsweise nötig gewesen.

Fast stets wurden bei der Isolierung mittels Salzsäure die Verbindungen in einheitlichem Zustande erhalten, sodass sie ohne weitere Reinigung aus ätherischer Lösung gut krystallisierten. Die farblosen Verunreinigungen der Chlorophyllabkömmlinge, wie Fette, Wachse, die sich durch blosses Umkrystallisieren schwer abtrennen lassen, sind durch das Aufnehmen mit verdünnter Säure beseitigt.

Schliesslich sei noch bemerkt, dass die Phytochlorine wie -rhodine die Behandlung mit Salzsäure gut vertragen, wenn auch besonders bei den leicht verseifbaren Estern eine unnötig lange Einwirkung der Säure vermieden werden muss.

2. Phytochlorine und Phytorhodine.

Vier Phytochlorine, die genetisch miteinander verknüpft sind, sollen beschrieben werden. Zwei von ihnen, a und b, wurden bei der erwähnten Behandlung eines in der Hitze dargestellten modifizierten Chlorophyllextraktes mit Alkali erhalten, begleitet von einem Gemische schwächerer Basen, aus denen sich eine mit tiefroter Farbe lösliche Verbindung (Phytorhodin f) isolieren liess.

Das Phytochlorin a geht bei energischer Einwirkung von alkoholischer Kalilauge vollständig in das stärker basische b über. Beide Substanzen verändern sich bei längerem Stehen in konzentriert salzsaurer Lösung und gehen in eine Anzahl, nach den Farberscheinungen eng zusammengehöriger, Verbindungen über, deren Hauptbestandteile die stärksten Basen unter den bis jetzt gefundenen Phytochlorinen, die c- und d-Verbindung, bilden.

Die vier näher untersuchten Phytochlorine bilden hinsichtlich der Basicität eine fortlaufende Reihe und zeigen in neutraler wie auch in saurer und alkalischer Lösung ähnliche Farberscheinungen, die jedoch bei den stärkeren Basen (c und d) viel leuchtender sind. Bei diesen kommt auch zu der Fluorescenz in neutralen Lösungen, die allen gemein ist, noch starke rote Fluorescenz in saurer und alkalischer Lösung. Die Löslichkeit in mehreren Solventien, z. B. Alkohol und Benzol, zeigt Abstufungen in der Reihenfolge der Basicitäten. Die wichtigsten Eigenschaften erlaubt die nachstehende Tabelle zu überblicken.

	Phytochlorin a	Phytochlorin b	Phytochlorin c	Phytochlorin d
Prozentgehalt der Salzsäure, die sehr reichlich aus Aether extrahiert	7	4	1.5	0.5
Krystallisation aus heissem Alkohol	Nädelchen, zu Rosetten vereinigt	Täfelchen, einseitig abgeschrägt, einzeln ausgebildet	Spindelförmige Krystalle	Prismen, schief abgeschnitten mit häufiger Zwillingsbildung
Farbe der ätherischen Lösung	olivgrün	olivgrün	grün, etwas olivstichig	rein grün
Farbe der salzsauren Lösung	blaustichig grün, nicht fluorescierend	blaustichig grün, nicht fluorescierend	blau, fluorescierend	violettblau, stark fluorescierend

	Phytochlorin a	Phytochlorin b	Phytochlorin c	Phytochlorin d
Löslichkeit in Methylalkohol	kalt schwer, heiss leicht löslich	kalt ziemlich schwer, heiss recht leicht löslich	schon in der Kälte recht leicht löslich	schon in der Kälte sehr leicht löslich
Löslichkeit in Benzol	kalt schwer, heiss leicht löslich	kalt recht schwer, heiss ziemlich leicht löslich	kalt fast unlöslich, heiss ziemlich schwer löslich	kalt fast unlöslich, heiss sehr schwer löslich

Alle diese Verbindungen wie auch die Phytorhodine sind unbeständig gegen Oxydations- und Reduktionsmittel und verändern sich überaus leicht, wahrscheinlich durch Verlust von Wasser, in der Wärme und zum Teil schon beim Aufbewahren im Vacuumexsikkator.

Ueber orientierende Versuche der Salzsäurespaltung des chlorophyllanartigen Extraktes finden sich im experimentellen Teil nähere Angaben. Aus ihnen geht hervor, dass bei derartigen Spaltungen die beschriebenen Phytochlorine nicht entstehen, sondern Gemische fast ausschliesslich noch schwächer basischer Verbindungen, ein Ergebnis, das einiges Licht auf gewisse Unklarheiten hinsichtlich der in der Litteratur beschriebenen Phyllocyanine wirft. Eine von den erhaltenen Substanzen lässt sich mit alkoholischem Kali in ein mit Phytochlorin a wahrscheinlich identisches Produkt überführen.

Für die Phytorhodine wurde das Ausgangsmaterial aus alkoholischen Auszügen gewonnen, die ohne Erhitzen aus getrockneten und fein gepulverten Brennesselblättern erhalten waren, wie überhaupt alle in dieser Arbeit beschriebenen Produkte aus dem Chlorophyll der Brennessel dargestellt wurden. Diese Extrakte erwiesen sich in den wesentlichen Eigenschaften als unveränderte Chlorophylllösungen. Mit alkoholischer Kalilauge wurde in der Kälte das in Alkohol nahezu unlösliche Kaliumsalz eines Alkachlorophylls ausgefällt und aus dem noch sehr intensiv gefärbten Filtrat mit Hilfe von alkoholischer Chlorcalciumlösung die Kalkverbindung eines zweiten Alkachlorophylls. Die Methode ähnelt also am meisten den Verfahren [1])

[1]) Siehe Einleitung.

von *W. N. Hartley* und von *E. Guignet*, von Autoren, welche gleichfalls mit alkalischem Reagens ohne Erwärmen Niederschläge aus Chlorophylllösungen erhielten. Schon in der Einleitung wurde erwähnt, dass die Auffassung dieser Forscher, so Verbindungen von noch unverändertem Chlorophyll erhalten zu haben, leicht zu widerlegen ist. Dementsprechend enthielten auch die von mir dargestellten Fällungen zweifellos im Sinne der Alkachlorophyllbildung verändertes Blattgrün. Das Kaliumsalz gab bei vorsichtigem Ansäuern ein Alkachlorophyll, das in den Farberscheinungen eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Chlorophyll der getrockneten Brennesseln zeigte, das sich aber im Gegensatz zu letzterem in wässrigen Alkalien glatt löste. Ueber dieses Alkachlorophyll, sowie das in der Kalkfällung vorliegende sollen später genauere Angaben gemacht werden.

Den besten Beweis für die durch Alkali verursachte Umwandlung des Chlorophylls lieferten mir die Produkte der Einwirkung von Säure auf die Kalium- und die aus der Mutterlauge gewonnene Kalkverbindung. Die Einwirkung von alkoholischer Chlorwasserstoffsäure in der Kälte, die bei dem *Schunck*'schen Alkachlorophyll zu den Phyllotaoninäthern führte, wurde vorläufig nur flüchtig untersucht. Von diesen Versuchen sei nur soviel erwähnt, dass auch hier mittels der Fraktionierungsmethode leicht sehr gut krystallisierende Substanzen zu isolieren waren, die mit den Aethern des Phyllotaonins gewisse Aehnlichkeit zeigten. Alle unterschieden sich sehr scharf besonders in den Farberscheinungen von den Säurespaltungsprodukten des unveränderten Chlorophylls. Beispielsweise sei eine bei ziemlich langer Einwirkung von äthylalkoholischer Säure aus dem Kaliumsalz in schönen Krystallen erhaltene Verbindung angeführt, die von etwa 10-prozentiger Salzsäure aus Aether aufgenommen wird. Sie ist in indifferenten Solventien mit schön roter, in Salzsäure mit brillant grüner Farbe löslich; da sie auch keine saure Gruppe enthält, ist sie dem Phyllotaoninaethyläther ähnlich; immerhin ist die Identität mit Phyllotaoninäther ungewiss, da ich eine genauere Untersuchung dieses Esters und seines Verseifungsproduktes mit Kali nicht ausgeführt habe.

Von diesen in der Kälte erhaltenen Spaltungsprodukten zeigen deutliche Unterschiede diejenigen Substanzen, die durch längeres Kochen mit alkoholischer Chlorwasserstoffsäure entstehen. Bei derartiger Behandlung erhielt ich aus dem Kaliumsalz und der Kalkverbindung zwei zwar sehr ähnliche, aber doch nicht identische Reihen von Phytorhodinen, ein Beweis dafür, dass die beiden Fällungen verschiedene Alkachlorophylle enthalten. Jedes dieser Materialien gab als Hauptprodukt ein Phytorhodin (a und b), und zwar zum Teil in freier Form, zum Teil als Aethylester. Daneben erhielt ich noch Gemische überwiegend stärker basischer Verbindungen von ähnlichem Habitus. Um auch hier das Verfahren der Fraktionierung an verschiedenartigen Beispielen zu erproben, isolierte ich ein drittes Phytorhodin (c), das sich aus ätherischer Lösung mit 3-prozentiger Salzsäure extrahieren lässt, während a und b 6,5- bezw. 9-prozentige Säure erfordern. Zwei noch stärkere Basen lagen nach der Fraktionierung auch in krystallisiertem Zustande vor, aber noch nicht in hinreichenden Mengen für die Untersuchung. Zwei in Aether unlösliche Phytorhodine, d und e, konnten auf Grund dieser Eigenschaft auch ohne Reinigung durch Salzsäure als Nebenprodukte krystallisiert erhalten werden.

Die Phytorhodine sind in ätherischer Lösung karminrot und purpurrot und zeigen prächtige Fluorescenz. Die salzsaure Lösung des Phytorhodins (a) aus dem Kaliumsalz und seines Esters ist violettstichig grün mit sehr schwacher Fluorescenz, die saure Lösung des Phytorhodins (b) aus der Kalkverbindung, sowie des zugehörigen Esters zeigt violettstichig blaue Farbe mit intensiver roter Fluorescenz. Die hauptsächlichen Eigenschaften der genauer untersuchten Phytorhodine sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

	Phytorhodin a	Phytorhodin b	Aethylester von Phytorhodin a
Prozentgehalt der Salzsäure, die sehr reichlich aus Aether extrahiert	6,5	9	9.5
Krystallisation aus Aether	Nädelchen, büschelförmig angeordnet	Täfelchen, rhombenförmig	Prismen, schief abgeschnitten
Farbe der ätherischen Lösung	karminrot	purpurrot	karminrot
Farbe der salzsauren Lösung	blaustichig grün, sehr schwach fluorescierend	violettstichig blau, fluorescierend	violettstichig grün, sehr schwach fluorescierend
Löslichkeit in Aether	ziemlich leicht löslich	ziemlich leicht löslich	recht leicht löslich
Löslichkeit in kaltem Alkohol	ziemlich leicht löslich	schwer löslich	leicht löslich

	Aethylester von Phytorhodin b	Phytorhodin c	Phytorhodin f
Prozentgehalt der Salzsäure, die sehr reichlich aus Aether extrahiert	11	3	11
Krystallisation aus Aether	Täfelchen, schief winklig	Nadeln, zu Büscheln vereinigt	Prismen, zu Rosetten vereinigt
Farbe der ätherischen Lösung	purpurrot	purpurrot	tiefrot
Farbe der salzsauren Lösung	violettstichig blau, fluorescierend	violettstichig grünlich blau, schwach fluorescierend	leuchtend grün, nicht fluorescierend
Löslichkeit in Aether	leicht löslich	ziemlich leicht löslich	krystallisiert äusserst schwer löslich, geht aber aus saurer Lösung in Aether
Löslichkeit in kaltem Alkohol	ziemlich leicht löslich	schwer löslich	ziemlich schwer löslich

Die beschriebenen Verbindungen bieten bei der Analyse einige Schwierigkeiten, da sie sehr schwer verbrennlich sind; namentlich bei der Stickstoffbestimmung bilden sie oft eine ungemein schwerverbrennliche stickstoffhaltige Kohle. Auch müssen diese hochmolekularen Stoffe mit besonderer Vorsicht für die Analyse vorbereitet werden, da sie sehr hartnäckig Lösungsmittel zurückhalten, aber zum grössten Teil Trocknung in der Wärme nicht vertragen. Da bei manchen Veränderungen beim Umkrystallisieren beobachtet werden konnten, wurde im allgemeinen vorgezogen, die Rohprodukte zur Analyse zu bringen, wie sie beim Eindampfen der ätherischen Lösungen im Vakuum hinterblieben. Meist wurden die Substanzen ohne Erhitzung über Schwefelsäure im Vakuumexsikkator zur Konstanz getrocknet, während z. B. Phyllotaonin und seine Derivate vor der Verbrennung bis auf 130° erhitzt wurden.

Die erhaltenen Analysenwerte der verschiedenen Substanzen liegen nahe beisammen. Einzelne lassen sich als isomer betrachten, wie Phytochlorin a und b, ferner Phytochlorin d und Phytorhodin a.

Andere differieren nur um die Bestandteile des Wassers, beispielsweise Phytochlorin a und d.

Es ist noch nicht möglich, die wahren empirischen Formeln der Verbindungen mit Sicherheit aufzustellen. Die Analysenwerte legen aber den Versuch nahe, um die enge Verwandtschaft zwischen diesen Chlorophyllderivaten deutlich hervortreten zu lassen, die Zusammensetzung aller durch Formeln auszudrücken mit 3 Atomen Stickstoff. Ohne den Resultaten erheblichen Zwang anzutun, kommt man dann fast durchwegs zur Annahme von 28 Atomen Kohlenstoff. Dieser erste Versuch einer Interpretation soll nur mit allem Vorbehalt gegeben werden. In allen Fällen sei auch das gefundene Verhältnis der Atome angeführt. Die wichtigsten Substanzen erhalten dann folgende Formeln:

Phytochlorin a	$C_{28}\ H_{33}\ O_5\ N_3$
Phytochlorin b	$C_{28}\ H_{33}\ O_5\ N_3$
Phytochlorin c	$C_{28}\ H_{33}\ O_6\ N_3$

Phytochlorin d	$C_{28}\ H_{35}\ O_6\ N_3$
Phytorhodin a	$C_{28}\ H_{35}\ O_6\ N_3$
Aethylester aus Phytorhodin a	$C_{30}\ H_{37}\ O_5\ N_3$
Phytorhodin b	$C_{28}\ H_{38}\ O_4\ N_3$
Aethylester von Phytorhodin b	$C_{30}\ H_{37}\ O_4\ N_3$

Das Molekulargewicht der Verbindungen zu bestimmen, ist mir leider noch nicht gelungen; da ich bei mehreren Versuchen mit der ebullioskopischen Methode kein brauchbares Resultat erzielte, kann im experimentellen Teil nur ein vorläufiger Versuch angeführt werden, das Molekulargewicht von Phytochlorin b durch die Analyse eines Caesiumsalzes zu ermitteln. Dieser Versuch widerspricht nicht der angeführten Formel.

Wie die vorliegende Arbeit überhaupt eine Untersuchung der Chlorophyllderivate nur vorbereiten sollte, so ist sie auch nach der physikalischen Seite unvollständig geblieben. Insbesondere werden noch spektralanalytische Beobachtungen nachzutragen sein.

Mit Chlorophyllabkömmlingen der Litteratur kann keines der genauer untersuchten neuen Derivate identifiziert werden. Zwar sind die Phytochlorine a und b *E. Schuncks* Phyllotaonin recht ähnlich, einige Phytorhodine zeigen Aehnlichkeit mit dem Phylloporphyrin, und die Phytorhodinester mit den Phyllotaoninäthern, aber in allen Fällen ist die Identität in erster Linie durch die stark divergierenden Analysenergebnisse ausgeschlossen, wie die folgende Zusammenstellung zeigt:

Mittelwerte der Analysen.

	C	H	N
Phyllotaonin	68.51	6.08	12.85
Phytochlorin a	68.47	6.85	8.90
Phylloporphyrin	75.98	7.10	11.02
Phytorhodin c [1])	69.15	6.69	8.79
Phyllotaoninäthyläther	69.22	6.04	11.40
Phytorhodinaethylester a	68.99	7.04	8.09

[1]) In Zusammensetzung und Eigenschaften steht von den Phytorhodinen c dem Phylloporphyrin am nächsten.

Auch ausserdem lassen sich gewisse Unterschiede anführen; Phylloporphyrin ist offenbar eine stärkere Base wie die Phytorhodine und im Gegensatz zu diesen unlöslich in Alkalien. Phyllotaonin krystallisiert nicht aus warmer Lösung in Alkohol und Aether und weicht hierin von Phytochlorin a und b ab. Die Phyllotaoninäther unterscheiden sich dadurch scharf von den Phytorhodinestern, dass ihre Verseifungsprodukte nicht rote, sondern olivgrüne Farbe besitzen.

Experimenteller Teil.

1. Phytochlorine.

Ausgangsmaterial.

Als sehr brauchbares Ausgangsmaterial zur Darstellung aller in dieser Arbeit zu beschreibenden Derivate des Chlorophylls wurden getrocknete Brennesselblätter verwendet.

Für die Gewinnung der Phytochlorine dienten ausschliesslich Extrakte, die das Blattgrün nicht mehr zum geringsten Teile unverändert enthielten, sondern in einem Zustand, der etwa dem Chlorophyllan *Hoppe-Seilers* entsprach.

Ein grosser Teil von ihnen wurde auf folgende im kleinen ausprobierte Art für Herrn Professor Dr. *Willstätter* von der chemischen Fabrik *Merck* in Darmstadt dargestellt, der dafür bestens gedankt sei.

25 kg. getrocknete und geschnittene Brennesselblätter wurden in Extraktionsapparaten mit siedendem Petroläther solange ausgezogen, bis alle gelben Pflanzenstoffe (Xanthophyll, Chrysophyll) in Lösung gegangen waren. Der grüne Farbstoff blieb dabei nahezu vollständig ungelöst und konnte nun durch erschöpfendes Extrahieren mit siedendem Essigäther den Blättern vollständig entzogen werden. Die essigätherische Lösung wurde im Vakuum bei gelinder Temperatur eingedampft, wobei die anfänglich schön grüne, stark rot fluorescierende Farbe der Flüssigkeit allmählich in ein olives Braun umschlug. Dieser Vorgang wurde offenbar durch die mit steigender Konzentration wachsende Einwirkung gelöster Pflanzensäuren, ausserdem vielleicht auch durch Spuren von freigewordener Essigsäure verursacht.

Der Eindampfungsrückstand bestand aus einer sehr zähflüssigen, fast schwarzen Masse, die in einer Ausbeute von 572 g aus der angegebenen Blättermenge erhalten wurde. Er löste sich mit bräunlich oliver Farbe und ziemlich schwacher roter Fluorescenz leicht und vollständig in Aether, dagegen nur zum Teil in siedendem Methylalkohol. Da es sich bei der weiteren Verarbeitung zeigte, dass der gelöste sowohl, wie der unlösliche Anteil aus dem Blattgrün entstandene Verbindungen enthielt, muss angenommen werden, dass der Extrakt aus mindestens zwei verschiedenen Chlorophyllderivaten bestand. Eines derselben isolierte ich durch wiederholtes Fällen mit Methylalkohol aus seiner ätherischen Lösung. Es zeigte in seinen Eigenschaften grosse Aehnlichkeit mit dem Phylloxanthin E. *Schuncks* [1]), besonders auch darin, dass es beim Eindunsten der Aetherlösung in den für letzteres charakteristischen, zu Rosetten vereinigten krystallinischen Fäden hinterblieb.

Einen ganz ähnlichen Extrakt stellte ich unter Wegiassung der Behandlung mit Petroläther dar, indem ich als Lösungsmittel siedenden Aethylalkohol und statt des nur geschnittenen Materials fein gemahlene Brennesselblätter verwendete. Ich benutzte dafür einen grossen Extraktionsapparat aus Steingut, der mehrere leicht auswechselbare Hülsen und einen durch Luftkühlung wirkenden Schlangenkühler aus gleichem Stoffe besitzt. Er gestattet infolgedessen eine tagelange, ununterbrochene Extraktion grösserer Mengen. So wurden 16 kg Brennesselpulver hintereinander in Portionen von je 2 kg extrahiert. Die erhaltene Lösung, in der sich schliesslich sehr viel dunkle Substanz ausgeschieden hatte, wurde im Vakuum eingedampft. Der so gewonnene Extrakt enthielt natürlich sehr viele in Petroläther lösliche Substanzen, vor allem die gelben Farbstoffe als Verunreinigung, ein Umstand, der bei der weiteren Verarbeitung noch grösserer (auf gleiche Weise dargestellter) Portionen, sehr störend wirken muss.

Dagegen erwies sich die Verwendung von gepulvertem Material als sehr zweckmässig. Während nämlich zerschnittene Blätter eine Extraktion in der Hitze erfordern, gibt das Bren-

[1]) Proc. Roy. Soc. 50, 306.

nesselmehl schon in der Kälte den grünen Farbstoff sehr leicht und vollständig an geeignete Lösungsmittel, wie Alhohol oder Essigäther ab. Dadurch ist nicht nur eine Vereinfachung der Arbeitsweise ermöglicht, sondern das Vermeiden von Erhitzung bietet auch den Vorteil, dass alle nur in siedenden Solventien löslichen Pflanzenstoffe dem Extrakt ferngehalten werden. In der Folge wurden daher Chlorophylllösungen ausschliesslich in der Kälte unter Anwendung feingemahlener Brennesseln dargestellt.

Ganz besondere Bedeutung gewann dieses neue Verfahren für die später zu beschreibende Gewinnung von Alkachlorophyllverbindungen, bei der es darauf ankam, einen möglichst wenig veränderten, also nicht durch Erhitzung und Säureeinwirkung modifizierten Auszug von Blattgrün zu erhalten.

Darstellung der Phytochlorine a und b.

Bei der gelinden Einwirkung von alkoholischem Kali lieferte der beschriebene chlorophyllanartige Extrakt eine Reihe von Verbindungen, deren stärkst basische Bestandteile die Phytochlorine a und b bildeten. Sie wurden in folgender Weise dargestellt.

Portionen von je 200 gr Extrakt, die etwa 8,5 bis 9 kg getrockneten Brennesselblättern entsprechen, werden mit dem zehnfachen Gewicht 96-prozentigen Alkohols kurze Zeit gekocht, wobei fast alles gelöst wird. Hierauf wird soviel äthylalkoholisches Kali zugegeben, dass eine etwa 2-prozentige Lösung von Aetzkali entsteht. Sofort schlägt die Farbe der ursprünglich olivstichig braunen Flüssigkeit über ein helles Gelbbraun in Olivbraun um. Nun wird noch ungefähr eine Viertelstunde am Rückfluss gekocht. Eine energischere Einwirkung von Alkali ist zu vermeiden, wenn man besonders auf eine gute Ausbeute von Phytochlorin a bedacht ist, da ja letzteres durch starke alkoholische Lauge in b überführbar ist. Die erkaltete Lösung, in der sich eine beträchtliche Ausscheidung gebildet hat, wird nunmehr mit Wasser stark verdünnt und mit Salzsäure neutralisiert, worauf die Reaktionsprodukte mit Aether

aufgenommen werden. Der ätherische Auszug wird durch wiederholtes Waschen möglichst von Alkohol befreit.

Es empfiehlt sich nun, durch rohe Fraktionierung ein Gemisch der zu isolierenden Verbindungen von den beträchtlichen Mengen schwächer basischer, bezw. indifferenter, Nebenprodukte zu trennen. Diese würden nämlich sonst besonders durch Verursachung schlimmer Emulsionen eine Reindarstellung der Phytochlorine mittels der Fraktionierungsmethode ausserordentlich erschweren. Ihre Abtrennung erreicht man dadurch, dass man die ätherische Lösung mehrmals mit je einem halben Liter 17-prozentiger Salzsäure ausschüttelt. Auf diese Weise wird fast alle überhaupt in konzentrierter Salzsäure lösliche Chlorophyllsubstanz sehr leicht herausgeholt, sodass der nunmehr gelbbraun gefärbte Aether im wesentlichen indifferente Verbindungen enthält. Die vereinigten salzsauren Lösungen werden hierauf mit so viel Wasser verdünnt, dass sie einen Gehalt von 15 Prozent Chlorwasserstoffsäure besitzen, und dann zur Abscheidung der schwachen Basen noch einmal mit Aether gewaschen. Hierauf neutralisiert man mit Natronlauge und bringt die Fällung in Aether. Man erhält so eine verhältnismässig wenig mit anderen Substanzen verunreinigte Lösung der Phytochlorine und eines Gemisches von etwas schwächer basischen Produkten, dessen Hauptbestandteil eine mit tiefroter Farbe lösliche Verbindung (siehe unter Phytorhodin f) bildet.

Die bei der Verarbeitung von 200 gr Extrakt anzuwendenden Flüssigkeitsmengen sind derart, dass man alle Operationen in 2 je 6 Liter fassenden Scheidetrichtern ausführen kann.

Zwecks Isolierung von a und b wird die ätherische Lösung auf ein Volumen von circa 3 Litern gebracht und zunächst mit $1^1/_2$ Litern 3-prozentiger Salzsäure gründlich durchgeschüttelt. Nach der leicht eintretenden Trennung der Schichten wird die saure Flüssigkeit abgelassen und die Auschüttelung des Aethers noch dreimal wiederholt, jedoch nur mit je einem Liter frischer Säure desselben Prozentgehalts. Der erste Auszug ist intensiv blaugrün gefärbt, während der letzte nur noch dünn ist. Die salzsauren Lösungen enthalten einen sehr beträchtlichen Teil vom Phytochlorin b des Gemisches und nur geringfügige Spuren

von der etwas schwächeren Base a. Diese werden nun vollends beseitigt, indem man die vereinigten Auszüge zweimal mit je einem Sechstel ihres Volumens Aether durchschüttelt. Die so gewaschene salzsaure Flüssigkeit wird mit Natronlauge neutralisiert und durch Abfiltrieren der flockigen Ausscheidung oder Wiederaufnehmen mit Aether die Base b isoliert.

Das ganze Verfahren ist namentlich an Sommertagen ohne grössere Unterbrechung durchzuführen, da beide Phytochlorine bei längerem Stehen auch in verdünnt salzsaurer Lösung allmähliche Zersetzung erleiden.

Die ätherische Mutterlauge wird nun zur völligen Entfernung von Phytochlorin b mehrmals kräftig mit 4,5-prozentiger Salzsäure ausgeschüttelt, beispielsweise einmal mit einem Drittel und dann noch zweimal mit einem Sechstel ihres Volumens. Phytochlorin a wird hierauf am besten mittels einer 6-prozentigen Salzsäure isoliert, welche die Substanz zwar nicht sehr leicht aus der Lösung des restierenden Gemisches herausholt, aber auch nur minimale Spuren von rotem Nebenprodukt und anderen schwächer basischen Begleitern mitnimmt.

Die Isolierung entspricht bezüglich der Volumenverhältnisse von Salzsäure und Aether im wesentlichen der von b. Nur kann man gemäss den verringerten Substanzmengen etwas kleinere Volumina anwenden. Es genügt, die etwa 2—2½ Liter betragende ätherische Lösung dreimal mit je ca. einem Liter 6-prozentiger Säure durchzuschütteln. Die abgelassene Flüssigkeit wird zweimal mit je 500 ccm Aether gewaschen und Phytochlorin a hierauf ganz wie die stärkere Base isoliert.

Nach diesem Verfahren werden die beiden Phytochlorine bei einiger Uebung in vollkommen reinem Zustand erhalten und bedürfen keiner weiteren Fraktionierung.

Es ist zweckmässig, zur Verbesserung der Ausbeute die erhaltenen „Mittelfraktionen“ [1]), bestehend aus den Substanzmengen, die in die Auszüge mit 4,5-prozentiger Salzsäure und in die Waschäther der Auszüge mit 3- und 6-prozentiger Säure gegangen sind, weiter auf die Phytochlorine zu verarbeiten.

[1]) Die in ihnen enthaltene Substanzmenge ist mindestens gleich der Summe von den Gewichten der isolierten reinen Körper.

Dies kann nach der oben angegebenen Methode geschehen, wobei nicht zu verdünnte ätherische Lösungen anzuwenden sind.

Es ist im allgemeinen angebracht, letztere für Fraktionierungen auf einen Gehalt von 2 bis höchstens 5 g Substanz im Liter zu bringen.

Günstiger für die Ausbeute ist es, die Phytochlorine mit etwas stärkeren Säuren, nämlich mit 3,5 und 6,5-prozentiger Salzsäure aus den Mittelfraktionen zu isolieren, wobei die Volumverhältnisse der ersten Methode beibehalten werden können. Natürlich muss a auch in diesem Falle vor seiner Isolierung noch vollständig (mit 4,5-prozentiger Säure) von der stärkeren Base befreit werden. Man erhält nach diesem Verfahren präparativ reine Körper, die zwecks absoluter Reinigung noch einmal der gleichen Fraktionierung unterworfen werden müssen. Da jedoch beim Arbeiten mit kleineren Mengen eine wiederholte Behandlung mit Salzsäure nicht viel Zeit beansprucht, so ist die zweite Arbeitsweise auch zur Darstellung vollkommen reiner Phytochlorine sehr wohl brauchbar.

Anfänglich wurden zur Isolierung von a und b diejenigen Salzsäuren verwendet, welche die Verbindungen aus Aether sehr reichlich und leicht herausholen, nämlich 4- und 7-prozentige Säure. Natürlich war hierbei eine mehrmalige Fraktionierung unumgänglich; auch wurden beträchtlichere Mittelfraktionen erhalten. Die Methode ist demnach wenig zweckdienlich für eine völlige Reinigung, eher noch für eine Gewinnung annähernd reiner Produkte in guter Ausbeute, da in letzterem Falle die Behandlung mit Salzsäure nicht wiederholt zu werden braucht. Weil mit ihrer Hilfe jedoch ein grosser Teil der reinen Phytochlorine hergestellt worden ist, sei sie hier kurz beschrieben.

Die ätherische Lösung des roh fraktionierten (mit 13-prozentiger Salzsäure) Gemisches wurde vier- bis fünfmal mit einem Fünftel ihres Volumens 4-prozentiger Säure ausgeschüttelt; die vereinigten Auszüge wurden mit ihrem gleichen Volumen Aether gewaschen, mit Natronlauge neutralisiert und die noch unreine Base b mit Aether aufgenommen. Um diese völlig aus der ätherischen Mutterlauge zu entfernen, wiederholte man die

Ausschüttelungen mit 4-prozentiger Salzsäure noch sechsmal, bis die letzten Auszüge schon sehr schwach und nicht mehr wahrnehmbar verschieden stark gefärbt waren. Hierauf wurde Phytochlorin a analog wie b mittels einer 7-prozentigen Säure isoliert. Die Rohprodukte wurden nun nach dem gleichen Prinzip einer zweiten, die a-Verbindung sogar einmal im ganzen vier Fraktionierungen unterworfen. Im letztern Fall konnte jedoch das Verfahren der Abtrennung von b schliesslich bedeutend abgekürzt werden, bezw. ganz unterbleiben.

Ueber die Ausbeuten, die in Folge der willkürlichen Verluste bei der Isolierung inkonstant waren, kann nur eine vorläufige Angabe gemacht werden; aus den 200 g Extrakt erhielt ich 1,9 g Phytochlorin a und 3,1 g Phytochlorin b in präparativ reinem Zustande. Durch die vollkommene Reinigung gingen meist noch beträchtliche Bruchteile verloren, besonders bei a, das ja nach zwei Seiten abzugrenzen ist. Die angegebenen Ausbeuten können natürlich durch Aufarbeitung der Mittelfraktionen erheblich vermehrt werden.

Phytochlorin a, $C_{28}\ H_{38}\ O_5\ N_4$.

Das Phytochlorin wird bei vorsichtigem Eindampfen seiner ätherischen Lösung als sehr voluminöses, weiches, krystallinisches Aggregat von grünlich schwarzer Farbe erhalten. Aus Alkohol umkrystallisiert, stellt es eine harte, blauschwarze, metallisch glänzende Krystallmasse dar, die zum Unterschied von der ebenso behandelten b-Verbindung in Aether unverändert löslich ist.

Es löst sich in Aether ziemlich leicht, 1 g in ca. 100 ccm, in Aethyl- und Methylalkohol bei Siedehitze recht leicht, in der Kälte ziemlich schwer, in Benzol heiss leicht, kalt schwer und in Chloroform wie in Aceton schon in der Kälte sehr leicht; in Petroläther und in hochsiedendem Ligroin ist es selbst in der Wärme so gut wie unlöslich, endlich in Wasser ganz unlöslich.

Zum Umkrystallisieren eignen sich Benzol und besonders die Alkohole; daraus krystallisiert die Substanz bei kleiner

Ausbildung der Formen in charakteristischen Rosetten von feinen, in der Durchsicht olivbraunen Nädelchen. Auch die beim langsamen Eindunsten der verdünnten ätherischen Lösung entstehenden Krystallnadeln zeigen Neigung zu konzentrischer Anordnung.

Bei langsamem Erhitzen schmelzen Rohprodukte sowie vorsichtig umkrystallisierte Präparate nicht ohne Veränderung bei 181—82°, nachdem sie kurz vorher zusammengesintert. Erhitzt man rascher, so ist erst bei ungefähr 190° ein Zusammensintern und gleich darauf folgendes Schmelzen zu beobachten.

Zur Analyse wurden die Präparate von dieser und den im Folgenden beschriebenen Substanzen im Vakuumexsikkator zur vollkommenen Gewichtskonstanz getrocknet, was mindestens einige Tage dauerte, da diese hochmolekularen Verbindungen die letzten Spuren der Lösungsmittel sehr hartnäckig zurückhalten.

Für die Bestimmungen I—III und VI dienten Rohprodukte verschiedener Darstellungen, für IV[1]), V und VII einmal aus Alkohol umkrystallisierte Präparate; die Mittelwerte der Analysen ergeben das Verhältnis: 1 N : 1,57 O : 8,98 C : 10,71 H.

I. 0,1489 g gaben 0,3727 g CO_2 und 0,0911 g H_2O
II. 0,1252 g „ 0,3142 g „ „ 0,0764 g „
III. 0,1595 g „ 0,4017 g „ „ 0,0980 g „
IV. 0,1270 g „ 0,3199 g „ „ 0,0771 g „
V. 0,1427 g „ 0,3615 g „ „ 0,0836 g „
VI. 0,1383 g „ 11,0 ccm Stickstoff bei 15° und 720,5 mm Druck,
VII. 0,0990 g „ 8,1 ccm Stickstoff bei 9,6° u. 715 mm Druck.

Berechnet für		Gefunden						
C_{28} H_{38} O_5 N_3		I	II	III	IV	V	VI	VII
C	68,38	68,27	68,45	68,69	68,70	69,09	—	—
H	6,77	6,84	6,83	6,87	6,79	6,55	—	—
N	8,57	—	—	—	—	—	8,90	9,23

[1]) Das nämliche Präparat, nur durch die Umkrystallisation unterschieden, diente für die Analysen III und IV.

Trocknung im Toluolbade verträgt das Phytochlorin a ebenso wenig wie längeres Erwärmen mit Lösungsmitteln. Bei dreimaligem Umkrystallisieren schied sich eine grössere Substanzprobe in scharf umrissenen, trapezförmigen Täfelchen und schwalbenschwanzförmigen Zwillingen aus; ihre Analyse (VIII und X) schien ebenso wie die im Toluolbade erhitzter Substanz (IX) auf den Verlust eines halben Moleküles Wasser hinzudeuten. Wahrscheinlich erklärt sich auch die Differenz der oben angeführten Bestimmung V von den anderen Werten durch den Einfluss längeren Kochens mit Alkohol.

VIII. 0,1380 g gaben 0,3523 g CO_2 und 0,0855 g H_2O
IX. 0,1186 g „ 0,3027 g CO_2 und 0,0740 g H_2O
X. 0,1605 g „ 13,2 ccm Stickstoff bei 14° u. 707 mm Druck.

Berechnet für C_{28} H_{32} $O_{4\frac{1}{2}}$ N_3 = C_{56} H_{64} O_9 N_6		Gefunden VIII	IX	X
C	69,66	69,62	69,61	—
H	6,68	6,93	6,98	—
N	8,73	—	—	9,01

Die angenommene Veränderung zeigt sich recht auffällig beim wiederholten Eindampfen der äthylalkoholischen Lösung im Wasserbad. Dadurch wird das Phytochlorin a vollständig unlöslich in Aether; erst beim Schütteln mit Wasser und Aether wird es von diesem wieder aufgenommen. Auch beobachtet man bei den durch Erwärmen modifizierten Präparaten ein Ansteigen des Schmelzpunktes auf über 200°.

Die Basicität der Verbindung wird durch mehrmaliges Umkrystallisieren nicht wahrnehmbar beeinflusst.

Phytochlorin a löst sich in Aether und Alkohol mit olivgrüner Farbe und mässig starker roter Fluorescenz, während die Lösung in Benzol bei ähnlicher Fluorescenz mehr olivbraun erscheint. Im durchfallenden Lichte sind die Lösungen der beiden Phytochlorine (a und b) in nicht zu geringer Schicht tiefrot. Charakteristisch ist die prachtvoll blaue Farbe in Eisessig, die an die violette Lösung des Phyllotaonins von *E. Schunck* und *L. Marchlewski* erinnert; die Eisessiglösung zeigt starke rote Fluorescenz, beim Versetzen mit Wasser bleibt ihre Farbe bis zu starker Verdünnung bestehen, wird aber violettstichiger.

In konzentrierter Schwefelsäure und in Ameisensäure löst sich das Phytochlorin blaugrün; auch von heiss gesättigter wässriger Oxalsäurelösung wird es vollständig aufgenommen.

Das Phytochlorin a besitzt schwach basische und ausgeprägte saure Eigenschaften. Aus ätherischer Lösung geht es so gut wie vollständig in 8-prozentige, sehr reichlich in 7-prozentige, nur spurenweise in 4-prozentige Salzsäure, 3-prozentige wird kaum angefärbt. Die salzsaure Lösung (in etwa 7-prozentiger Säure) ist tief blaustichig grün ohne rote Fluorescenz, in der Durchsicht erscheint sie bei dickerer Schicht rot. Durch Erwärmen wird diese Lösung erheblich blaustichiger, beim Erkalten kehrt wieder die ursprüngliche Farbe zurück. (Unterschied von b, das diesen Farbenwechsel nicht zeigt). Natronlauge von beliebiger Verdünnung, Ammoniak, Soda und Natriumbikarbonat nehmen die Verbindung quantitativ auf, auch aus ätherischer Lösung, und zwar mit olivbrauner Farbe ohne Fluorescenz. Durch einigermassen konzentrierte Alkalien werden die Alkalisalze vollständig ausgefällt.

Im Reagierrohr über der Flamme vorsichtig erhitzt, schmilzt das Phytochlorin und erstarrt beim Erkalten wieder völlig. Es ist nun schwächer basisch und in Aether schwerer löslich geworden. Beim stärkeren Erhitzen bis zur völligen Zersetzung treten rötliche Dämpfe von tabakartigem Geruch auf, die sich an kälteren Teilen des Glases zu einer bräunlich roten Flüssigkeit kondensieren; die Dämpfe der überhitzten Substanz geben die bekannte Pyrrolreaktion, nämlich Rötung eines mit konzentrierter Salzsäure getränkten Fichtenspahns.

Durch längeres Kochen mit einer hochprozentigen Lösung von Chlorwasserstoffsäure in Methylalkohol verliert die Verbindung ihre Löslichkeit in Alkalien. Das Reaktionsprodukt, wahrscheinlich ein Ester, zeigt ganz ähnliche Farberscheinungen und Basicität wie das Phytochlorin.

Durch Einwirkung konzentrierter Salpetersäure entsteht aus dem Phytochlorin a eine gelbgefärbte Substanz saurer Natur, Kaliumpermanganat bewirkt in saurer wie in alkalischer Lösung sehr leicht auch ohne Erwärmen vollständige Entfärbung. Viele

Reduktionsmittel, wie Zinkstaub oder Zinn und Salzsäure entfärben das Phytochlorin ebenfalls.

Beim Stehen an der Luft erleidet die ätherhaltige salzsaure Lösung der Substanz namentlich in den Sommermonaten leicht Veränderungen, sie wird reiner grün und enthält dann ein oder mehrere Produkte, die in indifferenten Lösungen rote Farbe aufweisen.

Phytochlorin b: C_{28} H_{33} O_5 N_3.

Das zweite Phytochlorin stimmt mit dem an erster Stelle beschriebenen in der Zusammensetzung und vielen Eigenschaften überein. Gleich diesem wird es als Rohprodukt in sehr voluminöser Form als mattschwarzes krystallinisches Pulver erhalten und bildet nach dem Umkrystallisieren ein spezifisch schwereres bläulich schwarzes Krystallaggregat von metallischem Glanz. Hier zeigt sich jedoch bei Phytochlorin b ein deutlicher Löslichkeitsunterschied. Während es nach vorsichtigem Eindampfen seiner ätherischen Lösung noch ziemlich leicht löslich in Aether ist, besitzt das umkrystallisierte Präparat äusserst geringe Löslichkeit in demselben. Auch das Rohprodukt hat schon bei gelindem Erwärmen die Neigung, ätherunlöslich zu werden. Schüttelt man aber eine derartig veränderte Substanz mit Wasser und Aether, so wird sie wieder glatt von letzterem aufgenommen, besonders leicht nach Zusatz einiger Tropfen verdünnter Salzsäure.

In Aethyl- und Methylalkohol löst sich die Verbindung warm leicht, kalt ziemlich schwer, in heissem Benzol ziemlich schwer, in kaltem sehr schwer. In Chloroform, Aceton und Ligroin ist die Löslichkeit die nämliche wie bei Phytochlorin a, auch zeigen die Lösungen in den indifferenten Solventien dieselbe Farbe und Fluorescenz. Eisessig löst Phytochlorin b mit schwach violettstichig blauer Farbe, sehr verdünnt erscheint die Lösung rein blau.

Aus heissem Benzol, sowie aus Aethyl- und Methylalkohol krystallisiert das Phytochlorin in reichlicher Menge aus und zwar in Säulchen und einerseits abgeschrägten Täfelchen

Beim Erhitzen bis zum Schmelzen verhalten sich Rohprodukte und umkrystallisierte Präparate ganz ähnlich. Sie beginnen bei ungefähr 180° zusammenzusintern und schmelzen dann unscharf unter allmählicher Zersetzung zwischen 183° und 190°. Eine weitere Uebereinstimmung geht aus den unten angeführten Analysen hervor. Für die Bestimmungen I, II und V wurden aus ätherischer Lösung durch Eindampfen isolierte Substanzen von mehreren Darstellungen verwandt, für III und IV verschiedenartig umkrystallisierte Produkte. Die Mittelwerte der Analysen ergeben das Verhältnis 1 N : 1,55 O : 8,94 C : 10,66 H.

I. 0,1660 g gaben 0,4185 g CO_2 und 0,1025 g H_2O
II. 0,1511 g „ 0,3284 g „ „ 0,0776 g „
III. 0,1431 g „ 0,3584 g „ (Wasserbestimmung verunglückt)
IV. 0,1417 g „ 0,3544 g „ und 0,0890 g H_2O
V. 0,1755 g „ 14,2 ccm Stickstoff bei 15° u. 717,5° mm Druck.

Berechnet für C_{28} H_{33} O_5 N_3		Gefunden I.	II.	III	IV.	V.
C	68,38	68,76	68,32	68,31	68,21	—
H	6,77	6,91	6,62	—	7,03	—
N	8,57	—	—	—	—	8,95

Beim Trocknen im Toluolbad zersetzte sich Phytochlorin b allmählich, indem es in schwächer basische Verbindungen überging, die in Aether olivbraun gefärbt waren; dabei erlitt es einen Gewichtsverlust von über 3%. Bei stärkerem Erhitzen bläht sich die Substanz auf und zersetzt sich ähnlich wie Phytochlorin a.

Im Verhalten gegen Alkalien stimmen die Phytochlorine a und b überein. Dagegen unterscheiden sie sich scharf durch die etwas stärkere Basicität von b. Dieses wird nämlich aus ätherischer Lösung schon von 2-prozentiger Salzsäure deutlich, sehr reichlich von 4- und fast vollständig von 5-prozentiger Säure aufgenommen. Die Farbe der Lösung in 4-prozentiger Salzsäure ist blaustichig grün, schön rot in der Durchsicht; beim Erwärmen ändert sie sich nicht (Unterschied von a), aber beim Verdünnen mit Wasser wird sie blaustichiger.

Ein Kupfersalz von Phytochlorin b wurde in Acetonlösung mittels Kupferhydroxyd dargestellt, das durch Fällung von Kupfersulfatlösung mit überschüssigem Baryumhydroxyd erhalten worden war. Das Salz zeichnet sich aus durch seine Unlöslichkeit in allen üblichen Solventien, wie Alkohol, Aceton, Chloroform, Amylalkohol.

Eine vorläufige Orientierung über die Molekulargrösse des Phytochlorins wurde mit einem Versuche der Bildung von primärem Alkalisalz bezweckt. Eine wässrige Lösung von Caesiumhydroxyd wurde mit einem beträchtlichen Ueberschuss von ätherischer Phytochlorinlösung geschüttelt. Die olivbraune Lösung des entstandenen Caesiumsalzes dunstete ich nach dem Abtrennen der ätherischen Schicht im Vakuumexsikkator ein und trocknete den Rückstand zur Gewichtskonstanz. Er enthielt 21,8 Prozent Caesium, woraus sich das Molekulargewicht des Salzes = 606 ergibt und das des Phytochlorins b = 475, wenn man die Annahme macht, dass das gebildete Caesiumsalz primär ist, dass also auf ein Atom des Metalls ein Molekül der Säure trifft. Für die Formel $C_{28}\ H_{33}\ O_5\ N_3$ ist berechnet 488. In der Tat zeigt die Caesiumverbindung das Verhalten eines sauren Salzes. Ihre Lösung gibt an Aether bei häufigem Durchschütteln jedesmal Phytochlorin ab, bis schliesslich ein Endzustand erreicht wird. Dabei hat sich aber die Erwartung nicht erfüllt, von dem primären Caesiumsalz zu einem sekundären zu gelangen und auf diese Weise eine Bestätigung für das gefundene Aequivalentgewicht zu erhalten. Als die Caesiumsalzlösung kein Phytochlorin mehr an Aether abgab, lieferte sie einen Trockenrückstand, dessen Caesiumgehalt nur = 26,7, bei einem wiederholten Versuche = 26,1 gefunden wurde.

Wenn man nicht die Annahme machen will, dass die eine von den Caesiumsalzlösungen eine Mischung von primärem und sekundärem Salz enthalten hat, so bleibt nur die Erklärung übrig, dass das Molekulargewicht des Phytochlorins b viermal so gross ist, und dass die beiden Caesiumsalze vier und fünf Atome Caesium enthalten.

Esterifizierung des Phytochlorins b.

Bei ein- bis zweistündigem Kochen des Phytochlorins b mit ca. 25-prozentiger methylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure wurde es etwa zur Hälfte alkaliunlöslich. Das in Aether gebrachte Reaktionsprodukt schüttelte ich zur Entfernung der noch saure Eigenschaften besitzenden Substanzen (grossenteils unveränderten Ausgangsmaterials) mit verdünnter Natronlauge mehrmals aus. Die ätherische Schicht wurde hierauf über geglühtem Natriumsulfat getrocknet und vorsichtig eingedampft. Ich erhielt so das Produkt als blauschwarzes krystallinisches Pulver, das beim langsamen Eindunsten seiner ätherischen Lösung in konzentrisch angeordneten, zweigartigen Gebilden hinterblieb. In schärfer umrissenen Formen und sehr reichlich kommt es ohne weitere Fraktionierung aus heissem Methyl- und Aethylalkohol heraus. Für die Analyse wurde die Substanz aus Methylalkohol umkrystallisiert und so in stahlblau glänzenden Aggregaten von rechtwinkligen Täfelchen und Säulchen erhalten, bei grösserer Ausbildung oft in schwalbenschwanzförmigen Zwillingen. Da die Verbindung sich weniger empfindlich gegen Erhitzung zeigte, wie die beiden Phytochlorine, konnte sie im Xylolbad getrocknet werden. Das vakuumtrockene Produkt erlitt dabei keine nennenswerte Gewichtsabnahme. Der Schmelzpunkt ist ziemlich scharf und liegt bei 140°.

I. 0,1431 g gaben 0,3665 g CO_2 und 0,0891 g H_2O
II. 0,1499 g gaben 12,2 ccm Stickstoff bei 16,5° u. 714,5 mm Druck

Berechnet für	Gefunden	
$(C_{29}H_{34}O_{4\frac{1}{2}}N_3)_2$	I.	II.
C 70,11	69,85	—
H 6,90	6,97	—
N 8,48	—	8,89

Der Analyse zufolge, die das Verhältnis 1 N : 1,41 O : 9,19 C : 10,92 H ergibt, ist die Verbindung wahrscheinlich ein Methylester von Phytochlorin b, entstanden unter gleichzeitiger Abspaltung von einem Molekül Wasser aus zwei Molekülen des Phytochlorins.

Dieser Annahme entsprechend erhielt ich bei kurzem Kochen mit starkem methylalkoholischem Kali aus dem Ester ein alkalilösliches Verseifungsprodukt, das nach seiner Basicität und den Farberscheinungen seiner Lösungen mit dem Phytochlorin identisch war.

Merkwürdigerweise unterscheidet sich der Methylester vom Phytochlorin, obwohl dessen sauere Gruppe ausgeschaltet ist, durch seine wesentlich geringere Basicität; 4-prozentige Salzsäure entzieht ihn der ätherischen Lösung so gut wie gar nicht, 7-prozentige zum Teil, 9-prozentige grösstenteils.

Der Methylester löst sich in Aether ziemlich leicht, in Methyl- und Aethylalkohol in der Kälte schwer, leichter in der Wärme, in siedendem Benzol ziemlich leicht. Seine Lösungen in indifferenten Solventien, ferner in Eisessig und in Mineralsäure sind in Bezug auf Farbe und Fluorescenz denen des Phytochlorins ganz ähnlich. Mit einer grösseren Probe wurde nach der Kalkmethode festgestellt, dass die Substanz kein Chlor enthält.

Umwandlung von Phytochlorin a in b.

Eine kleine Menge (ca. 0,2 g) ganz reinen Phytochlorins a wurde in starker äthylalkoholischer Kalilauge gelöst und die Flüssigkeit in einem weiten Reagierglas über freier Flamme stark eingedampft, bis sich am Rande vorübergehende intensive Grünfärbung zeigte. Schliesslich wurde noch eine Viertelstunde im siedenden Wasserbad erwärmt.

Der nach dem Neutralisieren mit Salzsäure erhaltene ätherische Auszug des Reaktionsproduktes war olivgrün gefärbt und enthielt eine Substanz, die in jeder Beziehung mit Phytochlorin b identisch war. Ihr Verhalten gegen Salzsäuren entsprach ganz den Angaben über die Basicität des Phytochlorins in der Tabelle S. 31. Die Verbindung krystallisierte ohne weitere Fraktionierung beim Eindunsten ihrer ätherischen Lösung in einerseits schiefwinklig begrenzten Täfelchen, also ganz ähnlich wie Phytochlorin b.

Bildung der Phytochlorine c und d aus a und b mittels konzentrierter Salzsäure.

Die Phytochlorine a und b gehen durch längere Einwirkung von konzentrierter Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur in eine Anzahl von teilweise viel stärker basischen Verbindungen über. Diese unterscheiden sich vom Ausgangsmaterial durch die viel mehr grüne Farbe der ätherischen und die schön blaue ihrer salzsauren Lösungen. Man kann sie als Glieder einer Reihe eng zusammengehöriger Verbindungen von stufenweise ansteigender Basicität ansehen. Als Hauptanteile wurden die beiden stärkst basischen Endglieder, Phytochlorin c und d, erhalten, die aus a sowohl wie aus b, allerdings in ungleichen Mengenverhältnissen, entstehen. Während im allgemeinen Gemische der beiden Phytochlorine mit konzentrierter Salzsäure behandelt wurden, ging ich zur Ermittlung der relativen Ausbeuten von den rein fraktionierten Präparaten aus.

0,77 g Phytochlorin a wurden in 100 ccm konzentrierter Salzsäure 25 Tage vor Licht geschützt in einer verschlossenen Glasflasche stehen gelassen. Dann wurde die anfangs blaugrüne, nunmehr blau gewordene Lösung mit viel Wasser verdünnt und das Reaktionsprodukt, ohne vollständig mit Natronlauge zu neutralisieren, in Aether gebracht. Das Ausäthern gestaltet sich wegen später zu erwähnender Eigenschaften der stärksten Base (d) etwas schwieriger wie sonst. Man setzt zweckmässig viel Kochsalz zu und nur so viel Alkali, dass die Flüssigkeit noch deutlich sauer reagiert. Das Reaktionsgemisch fraktionierte ich in folgender Weise.

Die ätherische Lösung, ungefähr ein Liter, wurde mit 500 und zweimal mit je 250 ccm 0,5-prozentiger Salzsäure durchgeschüttelt und die vereinigten sauren Auszüge zweimal mit je 200 ccm Aether gewaschen; nach annähernder Neutralisation wurde die Substanz, ein nur präparativ reines Phytochlorin d, mit Aether aufgenommen. Die etwas schwächere Base c wurde nun mittels 1,5-prozentiger Salzsäure aus der ätherischen Mutterlauge durch ganz analoge Behandlung isoliert.

In der nämlichen Weise liess ich auf 0,6 g Phytochlorin b konzentrierte Salzsäure einwirken und unterwarf die entstehenden Hauptprodukte c und d der gleichen Fraktionierungmethode.

Die so erhaltenen Ausbeuten an präparativ reinen Verbindungen, nämlich

	aus 0,77 g Phytochl. a	aus 0,60 g Phytochl. b
Phytochlorin c	0,09 g	0,03 g
Phytochlorin d	0,19 g	0,23 g

zeigen, dass b mehr von der stärksten Base (d) und viel weniger von c entstehen lässt als das Phytochlorin a.

Zur vollständigen Reinigung mussten die beiden neuen Verbindungen wiederholter Fraktionierung unterworfen werden, vor allem das sowohl nach der schwächer wie nach der stärker basischen Seite abzugrenzende Phytochlorin c.

Aus dem von Phytochlorin a herrührenden Reaktionsgemisch konnte ich ausser den eben erwähnten noch zwei weitere Produkte in geringen Mengen isolieren. Das stärker basische befreite ich mit 1,5-prozentiger Salzsäure vollends von c und isolierte es mittels 3-prozentiger Säure, die andere Substanz wurde mit 4- und 7-prozentiger Salzsäure ähnlich wie Phytochlorin a erhalten; sie krystallisierte beim Eindunsten ihrer ätherischen Lösung in kugeligen Gebilden mit deutlich sichtbarem Nadelkranz. Obwohl diese Verbindung in ihrer Basicität grosse Aehnlichkeit mit a besitzt, steht sie doch ebenso wie die stärkere Base in Anbetracht ihrer reiner grünen Farbe in indifferenten und der blauen in salzsauren Lösungen den Phytochlorinen c und d weit näher.

Aus Phytochlorin b war die erst von 7-prozentiger Salzsäure aufgenommene Verbindung nicht oder nur in ganz geringer Menge entstanden. Neben den beiden näher untersuchten stärksten Basen lag noch ein dem Ausgangsmaterial nach seiner Basicität ähnliches, aber doch nicht mit ihm identisches Produkt vor, vielleicht ein Gemisch von unverändertem b mit einem ihm sehr nahestehenden Körper.

Phytochlorin c, $C_{28}H_{33}O_6N_3$.

Das Phytochlorin c geht aus ätherischer Lösung schon in 2-prozentige Salzsäure zum weitaus grössten Teil, in 1,5-prozentige überwiegend, in 0,5-prozentige nur sehr wenig.

Es unterscheidet sich nicht nur durch die stärkere Basicität von den beiden ersten Phytochlorinen, sondern auch sehr wesentlich durch die Farberscheinungen seiner Lösungen. In Alkalien löst es sich auch bei grosser Verdünnung mit grüner, in verdünnten Mineralsäuren mit blauer Farbe, in beiden mit roter Fluorescenz. Noch stärker fluoresciert die schön blaue Eisessiglösung. Verdünnte Essigsäure nimmt es nicht auf, hingegen schon kalt gesättigte Oxalsäurelösung. Die ätherische und alkoholische Lösung sind olivstichig grün und zeigen natürlich auch Fluorescenz. Verdünnt man die alkoholische Lösung mit Wasser, so schlägt die Farbe über violett in olivbraun um, und die Lösung nimmt stark grünblaue Fluorescenz an.

Das Phytochlorin c ist in Aether ziemlich leicht, in Alkohol und Holzgeist schon in der Kälte recht leicht, in siedendem Benzol ziemlich schwer löslich, in kaltem fast unlöslich, in Chloroform warm recht leicht löslich, kalt ziemlich leicht, unlöslich in Ligroin. Bei langsamem Herauskommen aus methylalkoholischer Lösung bildet es spindelförmige Krystalle, bei raschem Krystallisieren S-ähnliche Wachstumsformen. Einen Schmelzpunkt besitzt die Substanz nicht, sie sintert langsam von etwa 180° an zusammen; schon im Toluolbad beginnt eine Zersetzung, bei der schwächer basische Produkte entstehen.

Ein mit Salzsäure wiederholt fraktioniertes Präparat, durch Eindunsten der ätherischen Lösung isoliert, diente zur Analyse, aus der sich das Verhältnis 1 N : 1,81 O : 8,86 C : 10,47 H ableitet.

I. 0,1525 g gaben 0,3719 g CO_2 und 0,0900 g H_2O

II. 0,1228 g gaben 10,0 ccm Stickstoff bei 21,5° u. 722,5 mm Druck

Berechnet für	Gefunden	
$C_{28}H_{33}O_6N_3$	I.	II.
C 66,23	66,51	—
H 6,55	6,60	—
N 8,30	—	8,78

Phytochlorin d, $C_{28}H_{35}O_6N_3$.

Das Phytochlorin d ist besonders gut charakterisiert durch die brillantesten Farberscheinungen. Es ist in dieser Reihe von Abbauprodukten des Chlorophylls die stärkste Base und schwächste Säure; am nächsten steht es in seinem Verhalten der c-Verbindung. Zum Unterschied von den übrigen Phytochlorinen wird es von Wasser aufgenommen mit prachtvoll violetter Farbe und sehr starker roter Fluorescenz. Es verteilt sich beim Durchschütteln der ätherischen Lösung mit Wasser auf beide Lösungsmittel. Enthält aber das Wasser nur eine Spur Salzsäure, so geht die Substanz wieder ganz in den Aether über. Das Phytochlorin d scheint also in zwei Formen aufzutreten, von denen die wasserlösliche nur bei Ausschluss von Säure existiert. Andernfalls müsste ja die Gegenwart einer kleinen Säuremenge die Wasserlöslichkeit der beträchtlich basischen Verbindung erhöhen.

Alkalien, z. B. 0,01- bis 10-prozentige Natronlauge, lösen das Phytochlorin d und zwar mit grüner, in starker Schicht rotbrauner Farbe und roter Fluorescenz. Durch konzentriertere Lauge wird das Natronsalz ausgefällt. Verdünnt man die alkalische Lösung mit sehr viel Wasser, so schlägt die Farbe in violett um, und das Phytochlorin kann mit Aether extrahiert werden. Eine derartige hydrolytische Dissoziation findet bei den anderen Phytochlorinen nicht statt.

Einprozentige Salzsäure nimmt die Base aus ätherischer Lösung so gut wie vollständig heraus, 0,5-prozentige einen sehr grossen Teil davon. Auch in verdünnter Essigsäure und verdünnter wässriger Oxalsäurelösung ist sie reichlich löslich.

Die salzsaure Lösung ist leuchtend violettblau, in der Durchsicht geht die Farbe je nach der Dicke der Schicht von blau über violett nach rot über; die Fluorescenz dieser Lösungen, namentlich bei grosser Verdünnung, ist eine ausserordentlich starke. Dasselbe gilt für die Lösung in Eisessig, deren Farbe auch violettblau ist.

Das Phytochlorin d löst sich in frischem Zustande ziemlich leicht in Aether, sehr leicht in den Alkoholen und Aceton schon

in der Kälte, schwer in kaltem, ziemlich schwer in siedendem Chloroform, in Benzol in der Kälte fast gar nicht, in der Hitze sehr schwer; in Ligroin ist es unlöslich.

Die verdünnte ätherische Lösung zeigt rein grüne Farbe, dickere Schichten sind in der Durchsicht braun.

Aus ätherischer Lösung krystallisierte die Substanz in keilförmig zugespitzten breiten Spiessen, die sich zu Bündeln vereinigten; einzeln waren sie hellgrün in der Durchsicht. Aus alkoholischer Lösung kamen schief abgeschnittene Prismen mit häufiger Zwillingsbildung heraus.

Während die Verbindung gegen Reagentien recht widerstandsfähig ist und z. B. Erhitzen mit starker alkoholischer Kalilauge verträgt, ist sie, in Substanz isoliert, sehr veränderlich. Sie neigt offenbar ausserordentlich zur Abspaltung von Wasser innerhalb ihres Moleküls. Einmal erleidet sie beim Erhitzen im Toluolbad Umwandlung in ein Gemisch schwächer basischer Phytochlorine und besitzt dementsprechend keinen eigentlichen Schmelzpunkt. Aber auch schon beim Aufbewahren im Vakuumexsikkator erfährt sie eine ähnliche Veränderung unter erheblicher Gewichtsabnahme. Dabei wurde das Produkt in Aether schwer löslich und ging in der Hauptmenge erst in 2,5-prozentige Salzsäure. Es gelang daher nicht, das Phytochlorin in seiner primären Form zur Analyse zu bringen. Vielmehr musste dafür ein während mehr als 3 Wochen zur Konstanz getrocknetes Präparat dienen, das sich von den Phytochlorinen a und b durch den Mehrgehalt von einem Molekül Wasser (in Bezug auf N_3) unterschied und das Verhältnis 1 N : 2,07 O : 9,60 C : 11,82 H aufwies.

I. 0,1272 g gaben 0,3083 g CO_2 und 0,0777 g H_2O
II. 0,1225 g gaben 9,2 ccm Stickstoff bei 22° und 720,5 mm Druck

Berechnet für	Gefunden	
$C_{28}H_{35}O_6N_3$	I.	II.
C 65,96	66,10	—
H 6,92	6,83	—
N 8,29	—	8,05

Bei höherem Erhitzen gibt das Phytochlorin d tabakartig riechende Dämpfe, welche die Fichtenspahnreaktion der Pyrrole zeigen. Es enthält Chlor ebensowenig wie die c-Verbindung.

Einwirkung konzentrierter Salzsäure auf den chlorophyllanartigen Extrakt.

Schüttelt man den zur Darstellung der Phytochlorine verwendeten Extrakt in Glasflaschen mit eingeschliffenem Stopfen mit konzentrierter Salzsäure, so färbt sich diese allmählich tief blaugrün an. Schneller erhält man eine ähnliche Lösung von Chlorophyllabkömmlingen basischer Natur, wenn man den Extrakt mit Aether aufnimmt und unter Kühlung die konzentrierte Säure zugibt, die sofort Substanz mit intensiv bläulichgrüner Farbe aus dem Aether herausholt. In beiden Fällen erhielt ich nach dem Verdünnen mit Wasser und Neutralisieren ätherische Auszüge, welche Gemische verschieden basischer Verbindungen enthielten. Da zur Zeit dieser Versuche die Fraktionierungsmethode mit Salzsäure noch nicht genügend ausgearbeitet war, isolierte ich nur roh gereinigte Fraktionen in nicht immer zweckmässiger Weise, sodass ich auf ziffernmässige Angaben von Ausbeuten verzichten muss. Trotzdem liessen die Resultate deutlich erkennen, dass bei längerer Behandlung mit Säure stärker basische Substanzen entstehen. Von 7-prozentiger Salzsäure wurde jedoch in allen Fällen nichts oder nur geringe Spuren aufgenommen, sodass also die Reaktionsprodukte dieser Versuchsreihe schwächere Basicität wie die Phytochlorine besitzen. Ich isolierte die Einzelnen durch successives Ausschütteln der ätherischen Lösungen mit 13- und 17-, eventuell auch 21-prozentiger Salzsäure.

Bei einer Säureeinwirkung von mehreren Tagen, sowie auch von einigen Wochen, erhielt ich die weitaus grösste Ausbeute mit 13-prozentiger Salzsäure, eine viel kleinere mit 17-prozentiger, und äusserst wenig schwächer basische Produkte.

Ganz kurze Behandlung dagegen, wie dies besonders das Arbeiten mit ätherischer Salzsäure ermöglichte, ergab eine Hauptfraktion mit 17-prozentiger Säure und daneben noch beträcht-

liche Mengen von erst durch 21-prozentige Säure gelöster Substanz.

Diese Versuche zeigen, wie wesentlich das Resultat durch die Dauer der Behandlung beeinflusst wird. Die mit 13- und 17-prozentiger Salzsäure isolierten Verbindungen waren einander in den Farbenerscheinungen ihrer Lösungen ziemlich ähnlich. In verdünnter Salzsäure zeigte die stärker basische besonders rein blaue Farbe, in Aether waren sie braunstichig oliv bis olivgrün gefärbt; das von 21-prozentiger Säure aufgenommene Produkt war dagegen mehr grün in saurer und brauner in ätherischer Lösung.

Die stärkst basische Substanz wurde trotz der rohen Fraktionierungsweise öfters gut krystallisiert erhalten. Sie unterscheidet sich scharf von der mit 17-prozentiger Salzsäure isolierten darin, dass sie bei der Einwirkung von heissem alkoholischem Kali ihre Basicität im wesentlichen beibehält, während die andere Fraktion dabei einen mit Phytochlorin a identischen oder ihm wenigstens sehr ähnlichen Körper lieferte.

Aus allem geht hervor, dass zur Darstellung eines bestimmten Säurespaltungsproduktes aus dem modifizierten Extrakt namentlich nach der Dauer der Säureeinwirkung genau festgelegte Bedingungen erforderlich sind, und dass es dabei kaum gelingen dürfte, ohne die Fraktionierungsmethode eine vollkommen reine Verbindung in befriedigender Ausbeute zu erhalten.

Die beschriebenen Beobachtungen sind vielleicht auch geeignet, zur Aufklärung der Beziehungen des *Schunck*'schen Phyllocyanins zur Phyllocyaninsäure von *Tschirch* beizutragen. Abgesehen von gewissen Unterschieden in den Eigenschaften, wie sie in der Literatur verzeichnet sind, erscheint eine Identität dieser Verbindungen auch wegen ihrer nicht unwesentlich verschiedenen Darstellungsweise unwahrscheinlich. Obwohl ferner genaue Angaben über die Einwirkungsdauer der konzentrierten Salzsäure fehlen, lässt doch die Beschreibung vermuten, dass die „Phyllocyaninsäure" einer längeren Berührung mit der Säure ausgesetzt war. Eine Untersuchung mittels der verschiedenen Salzsäuren wird hier leicht durch Feststellung der Basicität eine eventuelle Verschiedenheit oder auch Identität der beiden Chlorophyllderivate nachweisen können.

2. Phytorhodine.

Ausgangsmaterial.

Die zu beschreibenden Phytorhodine wurden mit Ausnahme des neben den Phytochlorinen auftretenden Phytorhodins f durch energische Behandlung mit alkoholischer Chlorwasserstoffsäure aus zwei verschiedenen Alkachlorophyllen erhalten, d. h. aus Einwirkungsprodukten von Alkali auf Chlorophyllsubstanz, die noch die unveränderte Farbe des Blattgrüns lebender Pflanzen zeigt. Das Verfahren, welches zur Herstellung eines geeigneten Extraktes diente, wurde schon bei der Besprechung des Ausgangsmaterials kurz erwähnt. Im Folgenden seien genauere Angaben gemacht.

Fein gemahlene getrocknete Brennesselblätter wurden in Portionen von je 3 kg in Glasflaschen mit eingeschliffenen Stopfen mit je 4½ Liter 96-prozentigen Alkohols ca. 12 Stunden unter zeitweiligem Umschütteln stehen gelassen. Das ausgelaugte Blättermehl wurde hierauf von der intensiv grünen, schön rot fluorescierenden Flüssigkeit auf einer grossen Nutsche aus Steingut abgepresst und mit je 800 ccm frischem Alkohol nachgewaschen. Durch diese Behandlung wurde der grüne Chlorophyllfarbstoff den Blättern vollständig entzogen. Zu dem Extrakt setzte ich nun Aetzkali, ungefähr 1 % vom Gewicht des Brennesselpulvers, in alkoholischer Lösung zu. Sofort bildete sich ein beträchtlicher dunkler Niederschlag, der nach 12-stündigem Stehen abfiltriert und auf dem Filter mit heissem Alkohol solange gewaschen wurde, bis dieser farblos ablief. So erhielt ich in einer durchschnittlichen Ausbeute von 9 g aus einem kg trockenen Brennesseln das eine Alkachlorophyll in Form eines durch farblose Beimengungen erheblich verunreinigten Kaliumsalzes.

Alkachlorophyllkaliumverbindung.

Dieses Salz stellt eine feste, leicht pulverisierbare, grünlich schwarze Masse dar, deren Farbe beim Verreiben etwas heller grün wird. In Wasser ist es mit intensiv grüner, nicht fluorescierender Farbe ziemlich leicht und vollständig löslich. Beim Einkochen einer Probe des Rohproduktes mit reiner Salpetersäure traten auf der heissen Flüssigkeit geschmolzene, schwach gelbliche Kügelchen auf, die beim Erkalten blättrig erstarrten. Diese Reaktion auf Fettsäuren wurde bei Präparaten, die aus warmer Glycerinlösung mit Alkohol ausgefällt worden waren, nicht mehr beobachtet. Hierdurch erhielt man demnach die Kaliumverbindung in relativ reinem Zustande; trotzdem blieben verschiedene Reinigungsversuche ohne ganz sicheres Resultat.

Durch sehr vorsichtiges Ansäuern mit Essigsäure wird das gegen Säure ausserordentlich empfindliche Alkachlorophyll aus seiner wässrigen Salzlösung in Freiheit gesetzt. Es ist in Aether prachtvoll blaugrün gefärbt und fluoresciert ausserordentlich stark rot. Seine nähere, hauptsächlich analytische Untersuchung ist noch nicht abgeschlossen und wird im Laboratorium des Herrn Professor *Willstätter* fortgeführt.

Den sichern Beweis, dass in dieser Verbindung nicht mehr unverändertes Chlorophyll vorlag, lieferten seine Säurespaltungsprodukte. Während das ursprüngliche Blattgrün durch kurze Säureeinwirkung in recht beständige Substanzen übergeht, die, soweit sie überhaupt basisch sind, erst von 17-prozentiger oder noch stärkerer Säure aufgenommen werden, erhielt ich beim Auflösen des Kaliumsalzes in konzentrierter Salzsäure sofort ein sehr veränderliches, schon in 11-prozentiger Säure fast vollständig lösliches Produkt in überwiegender Menge. Es löst sich in Aether olivgrün, in verdünnter Salzsäure blaugrün und besitzt die merkwürdige Eigenschaft, beim Erhitzen seiner alkoholischen Lösung in eine Verbindung von roter Farbe überzugehen. Auch bei längerem Stehen in Aether ist eine allmähliche Veränderung in diesem Sinne bemerkbar. [1])

[1]) In gewissem Zusammenhaug damit steht die Angabe von *L. Marchlewski,* dass das Säurespaltungsprodukt von *Hartley's* blauem Chlorophyll bei 48-stündigem Stehen in ätherischer Lösung das Spektrum des (nelken-

Dieser rote Körper bildet zum Unterschied von allen mir bekannten Chlorophyllderivaten beim Durchschütteln seiner ätherischen Lösung mit sehr verdünnter Salzsäure ein in Aether blau lösliches Chlorid.

Aus der oliven sowohl wie aus der roten Substanz wurde durch kurzes Kochen mit alkoholischem Kali ein noch nicht genauer untersuchtes, mit Phytochlorin a wahrscheinlich identisches Produkt erhalten.

Das Chlorophyllderivat des Kaliumsalzes unterscheidet sich ferner dadurch scharf von unverändertem Blattgrün, dass es bei der Behandlung mit alkoholischer Chlorwasserstoffsäure zum weitaus grössten Teil mit roter Farbe lösliche Verbindungen gibt, während Chlorophyll selbst unter diesen Umständen olive bis braungrüne Substanzen entstehen lässt. Mit dem erwähnten Reagens erhielt ich eine Reihe von Phytorhodinen in der weiter unten beschriebenen Weise.

Alkachlorophyllcalciumverbindung.

Eine ganz nahe verwandte, aber doch nicht identische Reihe dieser Phytorhodine erhielt ich aus einem anderen Alkachlorophyll. Dieses wurde mit einer konzentrierten Lösung von Chlorcalcium in Alkohol aus der alkoholischen Lauge des Kaliumsalzes gefällt, welch letztere zwar noch intensiv grün gefärbt war, aber auch bei längerem Stehen mit mehr Alkali keinen Niederschlag mehr ergab; die Lauge war nunmehr vollständig von grüner Substanz befreit und erschien ziemlich rein gelb. Die erhaltene Kalkfällung war sehr stark durch meist farblose Beimengungen verunreinigt; natürlich war sie auch nicht ganz frei zu erhalten von der Verbindung des Kaliumsalzes, sodass weiterhin die Derivate des letzteren stets als Verunreinigungen auftraten und sorgfältig abzutrennen waren. Das zweite Alkachlorophyll wurde nicht näher untersucht, jedoch ist die Entstehung der Phytorhodine ein Beweis dafür, dass es mit unverändertem Chlorophyll nicht identisch ist. Zunächst sei die Darstellung der Produkte aus dem Kaliumsalz beschrieben.

---

roten) Aethylphyllotaonins zeige. (In *Roscoe Schorlemmers* Lehrbuch, herausgegeben von *Brühl* VIII. Band 853 (1901).

Gewinnung der Phytorhodine aus der Kaliumverbindung.

92 g gepulvertes Kaliumsalz, entsprechend ca. 10 Kilo getrockneten Blättern, wurden mit einem Liter 20-prozentiger äthylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure sieben Stunden am Rückfluss unter Ausschluss von Feuchtigkeit gekocht. Schon nach kurzem Erwärmen trat ein Farbenumschlag von grün in olivstichiges rotbraun ein. Schliesslich wurde bei 50° im Vakuum stark konzentriert, viel Wasser zugegeben und mit Natronlauge neutralisiert. Durch Aufnehmen der Reaktionsprodukte mit Aether erhielt ich neben ätherunlöslicher Substanz (siehe unten) eine braunstichig rote Lösung, die ein Gemisch von alkaliunlöslichen Estern und Verbindungen saurer Natur enthielt. Zur Abtrennung der Säuren wurde der ätherische Auszug mehrmals mit sehr verdünnter Natronlauge ausgeschüttelt. In dem ziemlich rein rot gefärbten Aether lag nunmehr neben wenig, ausschliesslich schwächer basischen Beimengungen, ein Phytorhodinester vor, der von 9,5-prozentiger Salzsäure ziemlich vollständig gelöst wurde. Er konnte durch zweimalige Fraktionierung, indem er beispielsweise einmal mit 10-, dann mit 9,5-prozentiger Säure aufgenommen wurde, in reinem Zustand erhalten werden. Die Isolierung aus der sauren Lösung geschah bei den Phytorhodinen in der üblichen Weise, nämlich durch Neutralisieren mit verdünnter Natronlauge, Ausziehen mit Aether und vorsichtiges Eindampfen der über entwässertem Natriumsulfat getrockneten Lösung. Jedes längere Stehenlassen in salzsaurer Flüssigkeit ist zu vermeiden, da der Ester leicht zu der ihm entsprechenden Säure, dem Phytorhodin a, verseifbar ist.

Dieses Phytorhodin bildete den Hauptbestandteil des Gemisches von alkalilöslichen Verbindungen, die aus den alkalischen Auszügen durch Ansäuern wieder in Freiheit gesetzt und mit Aether aufgenommen wurden. Zur Reindarstellung der einzelnen Produkte führte ich ebenso wie bei den Phytorhodinen aus der Kalkfällung Fraktionierungen aus. Diese waren denen, welche bei der Reinigung der Phytochlorine angewandt wurden, im Prinzip ganz ähnlich; sie seien jedoch hier nochmals kurz beschrieben.

Durch absichtlich sehr verlustreiches, mehrmals wiederholtes Fraktionieren kleiner Proben wurden zweifellos reine Substanzen isoliert und deren Basicität festgestellt. Hierauf wählte ich zwei zur Reinigung geeignete Salzsäuren für jede Verbindung, die folgenden Bedingungen möglichst entsprechen mussten. Die eine Säure löste den Körper nur in ganz geringer Menge, war aber stark genug, um eine völlige Abtrennung des ihn begleitenden, nächst stärker basischen Produktes zu ermöglichen; die andere sollte die Substanz schon sehr reichlich lösen, ohne aber, zum mindesten bei wiederholter Fraktionierung, etwas von den verunreinigenden schwächeren Basen mitaufzunehmen. Natürlich gestaltete sich die Isolierung der Verbindungen verschieden leicht, je nachdem die neben ihnen auftretenden Produkte nach der Basicität sehr ähnlich waren oder grössere Unterschiede aufwiesen. So war z. B. Phytorhodin a etwas schwieriger zu reinigen als die entsprechende Substanz aus der Calciumfällung (Phytorhodin b). Die Mengenverhältnisse der Flüssigkeiten entsprachen ganz den für die Fraktionierung der Phytochlorine angegebenen; das Volumen der Salzsäure betrug nämlich stets einen Bruchteil ($^1/_4$ – $^1/_5$) der auszuschüttelnden ätherischen Lösung, und das Gesamtvolumen des Waschäthers, welcher meist in 2 Portionen verwandt wurde, bildete wiederum einen Bruchteil der Salzsäure.

Phytorhodin a wurde nach diesem Prinzip mit 4- und 8-prozentiger Säure isoliert. 6,5-prozentige erwies sich jedoch nachträglich als geeigneter zur völligen Reinigung; diese konnte jedoch aus Materialmangel nur mit einem kleinen Teil der Verbindung ausgeführt werden, zur Analyse wurde präparativ reine Substanz verwandt.

Neben diesem Phytorhodin erhielt ich aus dem Gemisch der alkalilöslichen Produkte noch zwei stärker basische rote Chlorophyllderivate. Die stärkste Base wurde mit 1-prozentiger Salzsäure isoliert, in welcher sie zum weitaus grössten Teile löslich ist, während 0,5-prozentige nur wenig von ihr aufnimmt. Bei zweimaliger Reinigung wurde sie in krystallisiertem Zustande erhalten, ebenso wie die dritte Substanz, die mit 1- und 3-prozentiger Säure fraktioniert wurde; beide wurden jedoch in für die analytische Untersuchung ungenügender Menge erhalten.

Beim Ausziehen des ursprünglichen Reaktionsgemisches mit Aether waren unlösliche Produkte erhalten worden. Aus ihrer Lösung in Chloroform kamen auf Zusatz von Aether schön ausgebildete Krystalle einer neuen Verbindung heraus, die wegen ihrer roten Farbe in indifferenten Lösungsmitteln den ätherlöslichen Rhodinen als Phytorhodin d beigezählt sei.

Die Ausbeuten in präparativ reiner Form waren leider noch gering; ich erhielt 0,4 g Phytorhodin a, 1,2 g seines Esters und 0,37 g Phytorhodin d.

Gewinnung der Phytorhodine aus der Calciumverbindung.

Die Behandlung der Kalkfällung mit äthylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure entsprach der beim Kaliumsalz durchgeführten, ebenso wie die weitere Verarbeitung der Reaktionsprodukte bis zur Trennung in einen esterifizierten Anteil und alkalilösliche Substanzen. Schon bei kurzem Kochen trat auch in diesem Falle ein ähnlicher Farbenumschlag ein. Das Hauptprodukt bildete ein neuer Phytorhodinester, der aus Aether in 11-prozentige Salzsäure überging, also nur wenig schwächer basisch war wie der erste. Er konnte daher von einer Beimengung des Phytorhodinesters a nur mit erheblichem Verlust durch mehrmalige Ausschüttelung mit 9,5-prozentiger Säure befreit werden.

Dem neuen Ester entsprach ein zweites Phytorhodin (b), das ganz ebenso vom verunreinigenden Phytorhodin a abgetrennt werden musste, indem man der ätherischen Lösung zunächst durch dreimalige Extraktion mit 6-prozentiger Salzsäure a entzog und dann das etwas schwächer basische b mit Hilfe von 9-prozentiger Säure isolierte. Gerade in diesen Fällen hat sich die Methode der Fraktionierung durch Salzsäure von verschiedenem Gehalt als unentbehrlich erwiesen.

Das Phytorhodin b war Hauptbestandteil der alkalilöslichen Produkte. Ausserdem traten noch zwei Verbindungen auf, die nach ihrer Basicität den entsprechenden aus dem Kaliumsalz recht ähnlich waren. Die eine, schon in 1-prozentige Salzsäure gehende, wurde in geringem Betrage erhalten, die andere,

mittels 3,5-prozentiger Säure isolierte, dagegen in zur Untersuchung ausreichender Menge (Phytorhodin c).

Beide Substanzen krystallisierten gut ebenso wie ein zweites ätherunlösliches Produkt (Phytorhodin e), welches ganz analog wie das erste gereinigt wurde. Die Ausbeuten an präparativ reinen Körpern betrugen 1,2 g Phytorhodin b und 0,9 g seines Esters, 0,6 g Phytorhodin c und 0,41 g Phytorhodin e.

Phytorhodin a, $C_{28} H_{35} O_6 N_3$.

Diese Verbindung wird, wiewohl sie einheitlich ist, schwer in gut krystallisiertem Zustande erhalten; ihre ätherische Lösung hinterlässt beim Abdampfen ein blauschwarzes Pulver, dessen dünne Schicht im durchfallenden Lichte braunrot erscheint; nur beim langsamen Eintrocknen verdünnter Lösung bilden sich Nädelchen aus, die zu Büscheln vereinigt sind. In Aether ist das Phytorhodin ziemlich leicht, auch in Aethyl- und Methylalkohol, sowie in Benzol in der Kälte ziemlich leicht, bei Siedetemperatur leicht löslich, sehr leicht in Chloroform und Aceton, in Ligroin unlöslich. Die Lösungen in den indifferenten Solventien zeigen schöne karminrote Farbe und schwache Fluorescenz.

Verdünnte Alkalien nehmen die Substanz auf mit braunroter, Salzsäure mit blaustichig grüner Farbe und sehr schwacher roter Fluorescenz, und zwar entzieht 3,5-prozentige Salzsäure das Phytorhodin seiner ätherischen Lösung nur spurenweise, 6,5-prozentige zum grössten Teile, 7,5-prozentige völlig.

Auch diese Substanz verändert sich in der Wärme und schmilzt nur unscharf und allmählich zwischen 130° und 140°.

Die Analyse eines durch Eindunsten der ätherischen Lösung isolierten Präparates ergab das Verhältnis

1 N : 2,05 O : 9,59 C : 11,17 H.

I. 0,1065 g gaben 0,2582 g CO_2 und 0,0629 g H_2O

I. 0,1155 g gaben 8,7 ccm Stickstoff bei 21,5° u. 720,5 mm Druck.

Berechnet für	Gefunden	
C_{28} H_{35} O_6 N_3	I.	II.
C 65,96	66,12	—
H 6,92	6,61	—
N 8,29	—	8,24

Aethylester des Phytorhodins a, C_{30} H_{37} O_5 N_3.

Der Ester ist alkaliunlöslich, enthält also keine saure Gruppe mehr. Zugleich aber ist er schwächer basisch als die zugehörige Säure; er geht nämlich aus ätherischer Lösung nur spurenweise in 6,5-prozentige Salzsäure und erst in 9,5-prozentige grösstenteils. Durch 15-stündiges Stehen der Esterlösung in 13-prozentiger sowie in konzentrierter Salzsäure wurde Phytorhodin a ziemlich glatt zurückgebildet, das auch bei kurzem Kochen mit methylalkoholischer Kalilauge als Hauptprodukt der Verseifung neben schwächer basischer, ebenfalls roter Substanz auftrat. Dagegen entstand bei 23-tägiger Einwirkung von konzentrierter Salzsäure eine dem Phytorhodin a an Basicität zwar ähnliche, aber in den Farberscheinungen ihrer Lösungen mehr b gleichende Verbindung.

Die saure Lösung des Esters ist violettstichig grün mit sehr schwacher roter Fluorescenz, die ätherische Lösung fluoresciert stärker und ist prächtig karminrot. In Aether und Benzol löst sich der Phytorhodinester recht leicht, in den Alkoholen schon in der Kälte leicht, spielend in Chloroform und Aceton, ein wenig in heissem Ligroin. Die Aetherlösung hinterlässt ihn beim vorsichtigen Eindunsten (beim Abdampfen in der Wärme erleidet dieser Ester wie auch der von Phytorhodin b leicht teilweise Zersetzung) in schiefabgeschnittenen mikroskopischen Prismen krystallisiert. Ohne einen scharfen Schmelzpunkt zu zeigen, verflüssigen sich diese schon unter 100° und zersetzen sich bei höherem Erhitzen, hauptsächlich verkohlend; die Dämpfe röten einen mit Salzsäure getränkten Fichtenspahn nur schwach.

Nach der Analyse, aus der das Verhältnis

1 N : 1,72 O : 9,97 C : 12,12 H

hervorgeht, ist anzunehmen, dass das Phytorhodin beim Esterifizieren gleichzeitig ein Molekül Wasser verliert.

I. 0,1376 g gaben 0,3481 g CO_2 und 0,0866 g H_2O.
II. 0,1310 g gaben 9,8 ccm Stickstoff bei 20,5° und 721 mm Druck.

Berechnet für $C_{30}H_{37}O_5N_3$		Gefunden I.	II.
C	69,31	68,99	—
H	7.18	7,04	—
N	8,11	—	8,09

Phytorhodin b, $C_{28}H_{38}O_4N_3$.

Das zweite Phytorhodin unterscheidet sich vom ersten durch den weit blaustichigeren Ton seiner Lösungen; in Aether zeigt es wunderschöne purpurrote Farbe und Fluorescenz, die sauren Lösungen sind violettstichig blau und zeichnen sich auch durch rote Fluorescenz aus. Es ist eine schwächere Base als Phytorhodin a, indem es von 6-prozentiger Salzsäure nur in Spuren, erst von 9-prozentiger grösstenteils seiner ätherischen Lösung entzogen wird.

Das Phytorhodin b lässt sich aus Aether, Benzol oder Holzgeist gut umkrystallisiert erhalten und bildet scharf ausgebildete rhombenförmige, in der Durchsicht braunrote Täfelchen mit häufigen Zwillingsbildungen. Beim Erhitzen schmelzen sie nicht, sondern erleiden langsam Zersetzung.

Charakteristisch ist das Verhalten der Verbindung gegen Natronlauge. Wird die ätherische Lösung mit 0,01-prozentiger Natronlauge durchgeschüttelt, so scheidet sich fast alle Substanz in braunen Flocken aus, wahrscheinlich als saures Natronsalz. Bei Anwendung von stärkerer, 0,1- bis gegen 1-prozentiger Lauge geht nämlich alles glatt mit schön braunroter Farbe in Lösung. Es ist also ein zweites Salz entstanden, das in konzentrierterer Natronlauge wiederum unlöslich ist, sodass es beim Versetzen der ätherischen Lösung mit etwa 8-prozentiger Lauge fast vollständig ausgeschieden wird.

Das Phytorhodin b ist in Aether und Aceton ziemlich leicht, in Alkohol, Holzgeist und Benzol in der Kälte ziemlich schwer, in der Wärme leicht, in Chloroform sehr leicht löslich, in Ligroin fast unlöslich. Beim Abdampfen seiner Aetherlösung hinterbleibt gewöhnlich ein kleiner Anteil veränderten, in Aether schwerlöslich gewordenen Produktes, eine Erscheinung, die ich auch bei den Phytorhodinestern bemerkte.

Die Eisessiglösung ist violettstichig rot und fluoresciert.

I. 0,1270 g gaben 0,3282 g CO_2 und 0,0824 g H_2O.
II. 0,1521 g gaben 12,4 ccm Stickstoff bei 20,5° und 717 mm Druck.

Berechnet für $C_{28}\ H_{33}\ O_4\ N_3$		Gefunden I.	II.
C	70,68	70,48	—
H	6,99	7,26	—
N	8,86	—	8,77

Hiernach ist das Verhältnis der Atome

1 N : 1,55 O : 9,40 C : 11,53 H.

Aethylester des Phytorhodins b, $C_{30}\ H_{37}\ O_4\ N_3$.

Die indifferenten und die sauren Lösungen des Esters unterscheiden sich in Farbe und Fluorescenz nicht von denen des Phytorhodins; der basische Charakter ist etwas abgeschwächt, sodass 9-prozentige Salzsäure nur sehr wenig, erst 11-prozentige den grössten Teil der Substanz aufnimmt. In wässrigen Alkalien löst sich der Ester nicht.

Ausgezeichnet ist dieser Phytorhodinester durch seine grosse Krystallisationsfähigkeit; aus erkaltender benzolischer, oder beim Verdunsten der ätherischen Lösung krystallisiert er in gut ausgebildeten schiefwinkeligen Täfelchen. Sie schmelzen unscharf bei ungefähr 76—80° nicht ohne Zersetzung; die Dämpfe der verkohlenden Substanz röten den mit Salzsäure getränkten Fichtenspahn nicht stark, aber deutlich.

In Aether löst sich der Ester leicht, in den Alkoholen und Benzol kalt ziemlich leicht, warm leicht, in Aceton, Chloroform und Eisessig sehr leicht. Die Analyse der nicht umkrystalli-

sierten, zur Konstanz getrockneten Substanz führt zu dem Verhältnis 1 N : 1,35 O : 9,91 C : 12,22 H.

I. 0,1232 g gaben 0,3220 g CO_2 und 0,0813 g H_2O.
II. 0,1252 g gaben 9,7 ccm Stickstoff bei 20° und 722 mm Druck.

Berechnet für $C_{30}H_{37}O_4N_3$		Gefunden I.	II.
C	71,52	71,28	—
H	7,41	7,38	—
N	8,37	—	8,41

Zum Phytorhodin b lässt sich der Aethylester glatt verseifen durch 12-stündiges Digerieren mit 13-prozentiger Salzsäure; hingegen wurde bei 21-tägigem Stehen mit konzentrierter Salzsäure ein zwar ähnlicher, aber stärker basischer Körper gebildet, beim Kochen mit alkoholischer Lauge ein dem Phytorhodin a ähnliches, nur schwächer basisches Produkt.

Phytorhodin c.

Neben Phytorhodin b entstand aus der Calciumverbindung in etwas geringerer Menge eine ihm ziemlich ähnliche, aber beträchtlich stärker basische Verbindung. Dieses Phytorhodin c wird aus seiner ätherischen Lösung, die in Farbe und Fluorescenz von der des b-Körpers nicht wesentlich abweicht, zum kleinen Teile von 2-, grösstenteils von 3-prozentiger Salzsäure extrahiert; die saure Lösung ist violettstichig und zugleich etwas grünlich blau gefärbt und zeigt schwache rote Fluorescenz. Schwieriger als von Phytorhodin b war es von einer noch stärkeren Base abzutrennen, die sich durch besonders schöne Farberscheinungen auszeichnet. Sie geht aus ihrer purpurroten ätherischen Lösung schon in 1-prozentige Salzsäure und bildet eine pleochromatische Lösung, die grün, violett und rot schillert und an ätherische Ortochinonlösungen erinnert.

Von 1-prozentiger Natronlauge wird das Phytorhodin c mit rötlich brauner Farbe klar gelöst, von 0,01-prozentiger in Form eines primären Alkalisalzes gefällt.

In der Kälte ist es in Aether ziemlich leicht, in Alkohol schwer, in Benzol sehr schwer, in Chloroform leicht löslich, in

Allen reichlicher in der Wärme, in Aceton sehr leicht löslich. Aus ätherischer Lösung krystallisiert es in öfters zu Büscheln vereinigten feinen Nadeln, beim Eindunsten erhält man es als violettschimmernd blauschwarze krystallinische Masse. Die Analyse, die das Verhältnis 1 N : 1,53 O : 9,20 C : 10,60 H ergibt, sei, um die Beziehung zum Phytorhodin b auszudrücken, mit der Formel C_{28} H_{34} $O_{4½}$ N_3 (d. i. C_{56} H_{68} O_9 N_6) interpretiert.

I. 0,1423 g gaben 0,3608 g CO_2 ued 0,0851 g H_3O.
II. 0,1287 g gaben 10,5 ccm Stickstoff bei 21° und 720 mm Druck.

	Berechnet für $(C_{28}$ H_{34} $O_{4½}$ $N_3)_2$	Gefunden I.	II.
C	69,37	69,15	—
H	7,07	6,69	—
N	8,69	—	8,79

Phytorhodine d und e.

Die Phytorhodine a und b waren bei ihrer Isolierung von schwächer basischen Nebenprodukten begleitet, die sich infolge ihrer Unlöslichkeit in Aether leicht abtrennen liessen. Die neben a auftretende und ihm in den wesentlichen Eigenschaften ähnliche Verbindung sei als Phytorhodin d, die b begleitende und ihm nahestehende als Phytorhodin e bezeichnet. Untereinander weisen die Phytorhodine d und e viel Gemeinsames auf, nur dass die Farberscheinungen gemäss den Typen a und b divergieren, und e in den üblichen Solventien noch schwerer löslich ist wie d.

Da beide Verbindungen auch aus saurer Lösung zum Unterschied von Phytorhodin f nicht in ätherlöslicher Form zu gewinnen sind, ist die sonst angewandte Art der Fraktionierung bei ihnen nicht durchzuführen. Jedoch war leicht festzustellen, dass sie aus Chloroform-Aetherlösung von etwa 12-prozentiger Salzsäure überwiegend aufgenommen werden; dabei wird allerdings ein Teil in Form von schwer löslichen Chloriden ausgeschieden, die in reinem Chloroform mit grüner, in dicker Schicht roter Farbe löslich sind. Die salzsaure Lösung von d ist violettschillernd grün, die von e violettschillernd blau, beide rot fluorescierend.

Die Produkte liessen sich gut reinigen durch Aufnehmen in siedendem Chloroform und Verdünnen mit Aether, worauf sie in konzentrisch angeordneten Säulchen auskrystallisierten. Gepulvert besitzen sie rote Farbe mit violettem Schimmer.

Das Phytorhodin d ist in der Kälte in Benzol ganz wenig, in Alkohol sehr schwer, in Chloroform und Aceton schwer löslich, in Allen etwas leichter in der Wärme.

0,1389 g gaben 0,3433 g CO_2 und 0,0727 g H_2O.

Berechnet für	Gefunden
$(C_{28}\ H_{30}\ O_{5\frac{1}{2}}\ N_3)_2$	—
C 67,70	67,41
H 6,09	5,86

Phytorhodin e ist in Alkohol und Benzol kalt äusserst schwer, auch beim Kochen sehr schwer löslich, etwas leichter in Chloroform und Aceton. Da ihm seiner Gewinnung nach ein wenig von d beigemischt sein konnte, wurde es für die Analyse aus Chloroform umkrystallisiert. Es steht in seiner Zusammensetzung b sehr nahe und enthält die Atome in folgendem Verhältnis: 1 N : 1,45 O : 9,69 C : 10,78 H.

I. 0,1153 g gaben 0,2991 g CO_2 und 0,0681 g H_2O.
II. 0,1052 g gaben 8,2 ccm Stickstoff bei 21,5° und 720 mm Druck.

Berechnet für	Gefunden	
$C_{28}\ H_{31}\ O_4\ N_3$	I.	II.
C 70,99	70,75	—
H 6,60	6,61	—
N 8,90	—	8,54

Phytorhodin f.

Bei der Gewinnung der Phytochlorine a und b war aus der salzsauren, auf einen Gehalt von ungefähr 15 Prozent Chlorwasserstoffsäure gebrachten Lösung ein Gemisch dieser beiden Körper mit schwächer basischen Verbindungen erhalten worden. Nach Beseitigung der Phytochlorine liess sich ihm mit 11-prozentiger Salzsäure eine dritte Hauptfraktion entziehen. In ihr

überwiegt bei weitem eine Substanz, die in Anbetracht der tief nelkenroten Farbe ihrer ätherischen Lösung und der leuchtend grünen Farbe, die sie in Salzsäure zeigt, nicht zu den Phytochlorinen zu stellen ist, sondern eher den beschriebenen roten Abbauprodukten des Chlorophylls als Phytorhodin f beigezählt sei.

Da dieses Phytorhodin ganz beträchtlich schwerer löslich in Aether ist als die neben ihm auftretenden Verbindungen, so krystallisiert es nach gründlicher Fraktionierung (mit 7- und 11-prozentiger Salzsäure) leicht aus seiner ätherischen Lösung aus.

Reiner indessen erhält man das Phytorhodin f auf andere Weise. Es zeigte sich nämlich, dass es von einigen anders gefärbten Produkten begleitet war, die ihm an Basicität so nahe standen, dass sie sich durch Salzsäure nur unter zu grossem Verlust abtrennen liessen. Unterschiede in der Acidität erlaubten nun aber eine Trennung, indem äusserst verdünnte Natronlauge, in kleinen Portionen zugesetzt, zuerst das Phytorhodin f aus der ätherischen Lösung extrahierte und darnach Fraktionen von oliv, dann braun und dann wieder oliv gefärbten Substanzen.

Nach dieser Reinigung krystallisierte aus der eingeengten ätherischen Lösung das Phytorhodin in schönen schwarzen, zu Rosetten vereinigten Prismen aus; sie wurden in einer Ausbeute von 0,54 g aus 200 g Extrakt erhalten. In dünner Schicht waren die Krystalle braun, im auffallenden Lichte zeigten sie käfergrünen Metallglanz. Für die Analyse trocknete ich sie im Toluolbad, wobei sie Gewichtsabnahme, aber keine Veränderung ihrer Eigenschaften erlitten. Die Analyse, das Verhältnis 1 N : 1,77 O : 8,74 C : 9,45 H erweisend, stimmt für die Formel $C_{26}\ H_{29}\ O_5\ N_3$, ohne übrigens eine zu den Formeln der anderen Verbindungen besser passende Annahme, etwa $C_{28}\ H_{29}\ O_6\ N_3$, gänzlich auszuschliessen.

I. 0,1320 g gaben 0,3237 g CO_2 und 0,0715 g H_2O.

II. 0,1142 g gaben 9,4 ccm Stickstoff bei 17,5° und 715 mm Druck.

Berechnet für $C_{26}H_{29}O_5N_3$		Berechnet für $C_{28}H_{29}O_6N_3$		Gefunden I.	II.
C	67,34	C	66,76	66,91	—
H	6,31	H	5,81	6,06	—
N	9,09	N	8,37	—	8,96

Andere Werte, stimmend für ein Hydrat mit $1^1/_2$ Molekülen Wasser, ergab die Analyse einer nur im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Krystallisation, die aus Chloroformlösung auf Zusatz von Aether ausgefallen war.

I. 0,1604 g gaben 0,3750 g CO_2 und 0,0920 g H_2O.

II. 0,1639 g gaben 12,6 ccm Stickstoff bei 15,5° u. 727,5 mm Druck.

Berechnet für $C_{26}H_{29}O_5N_3$ und $1^1/_2 H_2O$		Gefunden I.	II.
C	63,63	63,76	—
H	6,58	6,42	—
N	8,59	—	8,59

Das Phytorhodin f ist in Alkohol ziemlich leicht löslich und krystallisiert aus der warmen Lösung in oblongen Täfelchen. In Chloroform löst es sich leicht, in Benzol recht schwer, in Petroläther gar nicht. Die Lösung in Eisessig ist violettstichig rot und zeigt rote Fluorescenz. Die alkalische Lösung ist gelblichgrün, in dicker Schicht rotbraun, ihr fehlt die Fluorescenz ebenso wie der salzsauren Lösung.

Ungeachtet ihrer Schwerlöslichkeit lässt sich die Substanz anders wie die beiden zuletzt beschriebenen Phytorhodine leicht in Aether bringen, indem man ihre saure Lösung mit Aether überschichtet und verdünnt.

Das Phytorhodin f zeigt grosse Beständigkeit. So bleibt es bei kurzem Kochen mit starker methylalkoholischer Kalilauge sowie bei langer Einwirkung von konzentrierter Salzsäure unverändert; auch alkoholische Chlorwasserstoffsäure wirkt recht träge ein.

Komplexe Verbindungen mit Metallsalzen.

Die beschriebenen Phytochlorine und Phytorhodine bilden sehr charakteristische Doppelverbindungen mit den Salzen von Schwermetallen, beispielsweise mit den Acetaten von Kupfer und Zink. Sehr eingehende interessante Angaben über ganz ähnliche komplexe Salze einiger Chlorophyllderivate, wie des Phyllotaonins und besonders des Phyllocyanins, finden sich in den Arbeiten von *E. Schunck* [1]), sowie von *E. Schunck* und *L. Marchlewski* [2]), von *A. Tschirch* [3]) und anderen.

Allen diesen Verbindungen gemeinsam ist die ausserordentliche Intensität ihrer Farben, während sie in der Beständigkeit gegen Säuren sehr erhebliche Unterschiede aufweisen. Zu dem bereits Bekannten ist aber neu hinzuzufügen, dass man zwei verschiedene Reihen solcher Doppelsalze erhalten kann, wenn man bei ihrer Darstellung die Einwirkung freier Säure ausschliesst. Nach den Angaben der Litteratur wurden sie meist in der Weise erhalten, dass zu einer siedenden Lösung des Chlorophyllderivates in organischer Säure die Metallsalzlösung oder auch das Metalloxyd zugesetzt wurde. Ich stellte sie dagegen grösstenteils in alkoholischer Lösung dar und erhielt aus allen in dieser Arbeit beschriebenen Verbindungen saurer Natur mit Metallacetaten komplexe Salze, die in Aether und einigen anderen organischen Lösungsmitteln gänzlich unlöslich sind. Durch die geringsten Mengen überschüssiger Säure, wie Salzsäure oder Essigsäure werden sie jedoch in neue, ätherlösliche Doppelverbindungen übergeführt. Nur die Ester geben ohne weiteres mit den Metallsalzen Additionsprodukte der löslichen Reihe. Kupfer- und Zinksalze von Phytochlorinen und Phytorhodinen krystallisierten gut aus ätherischer Lösung.

Untereinander zeigen die aus den unlöslichen Metalldoppelsalzen mit verdünnter Essigsäure und die durch Salzsäure gebildeten mit den aus Eisessiglösung entstehenden komplexen

[1]) Proc. Roy. Soc. 39,357 und 55,352 und Annals of Botany, III 92.

[2]) Lieb. Annalen 278, 329.

[3]) Das Kupfer vom Standpunkte der gerichtlichen Chemie, Toxikologie und Hygiene, 1893 pag. 25.

Produkten grosse Aehnlichkeit, ohne aber identisch zu sein. Ueberhaupt ist die Differenzierung in den Eigenschaften der entsprechenden Salze nur gering.

Die Farben der in Alkohol dargestellten Kupfer- und Zinkacetatdoppelverbindungen in ätherischer Lösung sind aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich. Alle sind sehr intensiv gefärbt, im allgemeinen vielfach so intensiv als die Chlorophyllderivate selbst, deren minimalste Spuren mit diesen Reaktionen deutlich sichtbar gemacht werden können. Während die Zinkverbindungen in indifferenten Lösungen ohne Ausnahme sehr stark fluorescieren, weisen die Kupferverbindungen nicht die geringste rote Fluorescenz auf. Die Zink- und Kupferdoppelsalze von Phytochlorinen und -rhodinen saurer Natur sind anscheinend unverändert löslich in sehr verdünnter Natronlauge, einzelne (Phytochlorin a) geben schwer lösliche Natronsalze. Hingegen reagieren die aus den Estern gewonnenen Produkte nicht mit Alkalilauge. Ganz verschieden ist aber das Verhalten der Zinkverbindungen einerseits, der Kupferverbindungen andererseits gegen Säure. Die Zinkdoppelsalze werden von 10- bis 20-prozentiger Salzsäure unter Zersetzung gelöst, indem die ursprünglichen Stoffe ganz oder grösstenteils unzersetzt regeneriert werden. Dagegen werden die Kupferverbindungen, von denen manche überhaupt eine fast beispiellose Beständigkeit [1]) besitzen, auch von konzentrierter Salzsäure nicht zersetzt. Sie sind bedeutend schwächer basisch wie die Chlorophyllabkömmlinge, aus denen sie entstanden. So wurden alle dargestellten Kupferverbindungen von 20-prozentiger Salzsäure höchstens in Spuren aufgenommen, ja einige, beispielsweise die aus den Phytorhodinestern gebildeten, hatten ihre basischen Eigenschaften fast völlig verloren; sie wurden auch von konzentrierter Säure ihrer ätherischen Lösung nur in Spuren entzogen. Im allgemeinen gehen die Salze der Phytochlorine recht

[1]) Diese Widerstandsfähigkeit der Kupferverbindungen hat mich viel Zeit gekostet; alle Versuche, aus kupferhaltigen technischen Präparaten von Blattgrün dem Chlorophyll noch nahestehende Spaltungsprodukte zu gewinnen, scheiterten an der Unmöglichkeit, das Metall ohne allzu energische Eingriffe vollständig herauszuholen.

leicht, die der Phytorhodine a, b und c nur wenig in die konzentrierte Salzsäure.

Zur Darstellung der Doppelsalze versetzte ich die alkoholische Lösung der Chlorophyllderivate mit alkoholischer Lösung von Kupfer- oder Zinkacetat. Dabei entstand im allgemeinen (nicht bei den Phytorhodinestern) eine Fällung, von der nur bei den Zinkverbindungen ein wenig infolge von Zersetzung überschüssigen Acetates in Aether gebracht werden konnte. Durch Zufügen von verdünnter Essigsäure oder Salzsäure wurde die Umwandlung in die Doppelsalze der ätherlöslichen Reihe bewirkt.

Farbe der komplexen Salze in Aether.

	Kupferacetat	Zinkacetat
Phytochlorin a	bläulich grün	blau
Phytochlorin b	bläulich grün	blau
Phytochlorin c	grünblau	blau
Phytochlorin d	grünlich blau	blau
Phytorhodin a	purpurrot	violettstichig blau
Ester von Phytorhodin a	purpurrot	violettrot
Phytorhodin b	rotstichig violett	violettblau
Ester von Phytorhodin b	violett	violett
Phytorhodin c	purpurrot	violett
Phytorhodin f	blaugrün	blaustichig grün.

Curriculum vitae.

Der Verfasser vorliegender Arbeit wurde am 25. September 1878 zu Spandau (Prov. Brandenburg) als Sohn des Hauptmanns *Armand Mieg* geboren. Er besuchte das humanistische Gymnasium zu Heidelberg und bestand dort im Juli 1897 die Reifeprüfung. Nach zweisemestrigem Studium an der Universität München und nach je einsemestrigem Studium an den Universitäten Berlin und Genf setzte er seine Studien an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München fort. Hier bestand er im Februar 1902 das Verbandsexamen und führte die vorliegende wissenschaftliche Arbeit im chemischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften unter der Leitung des Herrn Professor Dr. *R Willstätter* aus.